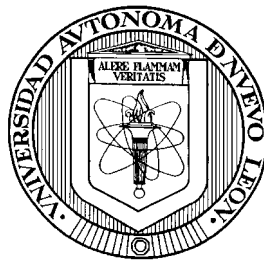


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**CARACTERIZACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS EN CASOS CRÓNICOS
DE NEUMONÍA EN EL GANADO EN CORRAL DE ENGORDA**

Por

MAYRA ALEJANDRA GONZÁLEZ VÁZQUEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

Diciembre, 2008

**CARACTERIZACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS EN CASOS
CRÓNICOS DE NEUMONÍA EN EL GANADO DE CORRAL DE ENGORDA**



PhD Rafael Ramírez Romero
Asesor Principal



MSc Alicia Magdalena Nevárez Garza
Co-asesor



PhD Luis Edgar Rodríguez Tovar
Co-asesor



PhD Gustavo Hernández Vidal
Co-asesor



Dr. Alfredo Wong González
Co-asesor

**CARACTERIZACIÓN DE LESIONES HISTOPATOLÓGICAS EN CASOS
CRÓNICOS DE NEUMONÍA EN EL GANADO EN CORRAL DE ENGORDA**

APROBACIÓN DE LA TESIS:



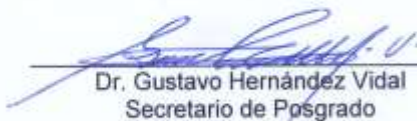
Dr. Rafael Ramírez Romero
Presidente



Dr. Luis Edgar Rodríguez Tovar
Secretario



MSc Alicia Magdalena Nevárez Garza
Vocal



Dr. Gustavo Hernández Vidal
Secretario de Posgrado

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso.

A mis padres Pedro González Yado y María Vázquez Muñiz, gracias por darme la vida y apoyarme en mi carrera.

Al MVZ MC Aarón Alejandro Mendoza Villarreal, mi colega y esposo, gracias por apoyarme y tenerme paciencia, te amo.

A mi hija Roxanna Abigail, mi amorcito.

A mis hermanos Titina (Mary), Ricardo e Irene, gracias por su apoyo.

A la Familia Mendoza Villarreal por todo su apoyo y cariño, en especial a mis suegros Marcela y Margarito, a mis cuñadas y concuños Gala, Alex, Ady, Pepe, Nany y a todos mis sobrinos.

AGRADECIMIENTOS

Al Ph D. Rafael Ramírez Romero, mi asesor, gracias por tenerme tanta paciencia y compartir sus conocimientos para la realización de la presente tesis.

A la MsC. Alicia Nevárez Garza, mi co-asesora, gracias por su comprensión y por el apoyo para la realización de la tesis.

Al Ph.D. Luis Edgar Tovar Rodríguez, co-asesor, gracias por el apoyo a mi tesis.

A la Técnica Laboratorista María Marciana Covarrubias, gracias por tu amistad y por la ayuda que me brindaste con el procedimiento histopatológico.

A la Srita. Juany Limón por el apoyo en el procedimiento histopatológico de muestras para mi tesis.

A la Srita. Rocío por su amistad, además de auxiliarme con mis grandes dudas para arreglar mi papelería y por aguantarme (“paguen, paguen, paguen”).

A mis compañeros de maestría Jaime Clodoaldo, Jesús (Chucho Chilango) y Aníbal gracias por su amistad.

A mis maestros que tuve porque gracias a ellos recibí enseñanzas que no se pueden olvidar.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. LITERATURA REVISADA	4
2. 1 Condiciones que predisponen a los bovinos a padecer neumonías	4
2.1.1 Mecanismos de defensa	4
2.2 Desarrollo de la lesión pulmonar.	8
2.2.1 Factores que contribuyen a la presentación de neumonías	8
2. 3 Agentes infecciosos involucrados	9
2.4 Patogénesis	11
2.5 Clasificación de las lesiones pulmonares neumónicas	18
2.6 Analogías entre las lesiones pulmonares crónicas del complejo respiratorio bovino y las enfermedades pulmonares crónicas de origen infeccioso en el humano	26
2.6.1 Complejo Respiratorio Bovino	26
2.6.2 Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica	29
2.6.3 Neumonía Crónica Restaurativa	30
2.7 Objetivo	35
2.7.1 Objetivos particulares	35

2.8 Hipótesis	36
3. MATERIAL Y MÉTODOS	37
3.1 Colección de muestras	37
3.2 Procedimientos de histoquímica	39
3.3 Observación de las muestras	39
4. RESULTADOS	41
5. DISCUSIÓN	54
6. CONCLUSIONES	62
REFERENCIAS	63
APENDICE 1	69
APENDICE 2	70
APENDICE 3	71
APENDICE 4	73

Tabla	Página
1. Principales agentes infecciosos asociados con el Complejo Respiratorio Bovino	10
2. Clasificación anatomopatológica de las neumonías en los bovinos	23
3. Resumen de las lesiones asociadas con la remodelación en asma y en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica	31
4. Algunas causas y condiciones relacionadas con la presentación de Neumonía Crónica Restaurativa	32
5. Comparación de las lesiones pulmonares microscópicas reconocidas en el Complejo Respiratorio Bovino, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica y Neumonía Crónica Restaurativa	34
6. Parámetros y sistema de calificación clínica de la Enfermedad Respiratoria	38
7. Resultados de las observaciones de lesiones histopatológicas	52, 53

LISTA DE TABLAS

Figura	Páginas
<p>1. La fibroplasia fue la lesión más obvia en los espacios perilobulillares, pleura e intersticio (septo alveolar) en ese orden. A. Fibroplasia intersticial y atelectasia. H&E, 20x. B. Fibroplasia intersticial inicial, más evidente en la periferia de los vasos sanguíneos. Tricrómica de Masson. 20x.</p>	42, 43
<p>2. A. Se presentan dos bronquiolos con fibroplasia organizada ocluyendo su lumen y epitelialización subsecuente. El exudado fibrinoso constituye la base de esta organización crónica. H&E. 20x. B. Se muestra la organización temprana del tejido conectivo tanto en la luz del bronquiolo como en el intersticio adyacente. La lesión es el inicio de la bronquiolitis obliterante. Tricrómica de Masson. 40x</p>	44, 45
<p>3. A. Bronquio con hiperplasia epitelial e hiperplasia de células caliciformes (flechas). B. Bronquio con hiperplasia de células caliciformes (flechas). PAS/Azul de Alciano. 20x.</p>	46, 47
<p>4. Las células cebadas se mostraron siempre asociadas con fibroplasia. En la imagen se observan la hiperplasia de células cebadas (flechas). Azul de Toluidina. 20x.</p>	48, 49
<p>5. Presencia de células sincitiales, en espacios alveolares o como parte de la hiperplasia epitelial en bronquiolos. En el centro de la imagen se observan los sincitios (flecha). H&E. 20x.</p>	50, 51

LISTA DE FIGURAS

NOMENCLATURA

BO-OP	Bronchiolitis Obliterans-Organizing Pneumonia
BO-NO	Bronquiolitis Obliterante-Neumonía Organizante
BRSV	Virus Respiratorio Sincitial Bovino
C3b	Fracción C3b del Complemento
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica
Fc	Fracción cristizable
CRB	Complejo Respiratorio Bovino
H&E	Hematoxilina y Eosina
IgG	Inmunoglobulina G
IBR	Rinotraqueítis Infecciosa Bovina
IL-1	Interleucina 1
IL-8	Interleucina 8
Kg	Kilogramo
LPS	Lipopolisacarido
Lct	Leucotoxina

mg	Miligramo
min	Minuto
μm	micrómetro
mm	milímetro
ml	mililitro
ORVA	Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas
PAS	Acido Peryódico de Shiff
PIM's	Pulmonary Intravascular Macrophages
pH	Concentración de iones o cationes hidrógeno
RAO	Recurrent Airways Obstruction
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral-alfa
VPI3	Virus de Parainfluenza 3

RESUMEN

Nombre: Mayra Alejandra González Vázquez.

Fecha de Graduación: Marzo 2009.

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Título del estudio: Caracterización de lesiones histopatológicas en casos crónicos de neumonía en el ganado en corral de engorda.

Número de páginas: 77

Candidato para el grado de Maestría en Ciencias Veterinarias con Especialidad en Salud Animal

Área de estudio: Patología Veterinaria.

Las neumonías siguen siendo el problema mas importante en el amplio mundo de la industria del ganado en corral de engorda. La mayoría de la literatura publicada esta interesada en la patogénesis de las lesiones pulmonares durante la fase aguda de la enfermedad. No obstante, la presencia de lesiones crónicas en rastro confirma que las secuelas neumónicas son el mayor problema. En el trabajo aquí descrito nos enfocamos a casos naturales de lesiones neumónicas en ganado en corral de engorda en con la intención de caracterizarlas histológicamente. Además, proponemos comparar estas lesiones con las descripciones de la bronquitis crónica y las lesiones neumónicas en seres humanos. En este trabajo se obtuvieron 32 casos de neumonía clínica y postmortem confirmada en ganado en corral de engorda 32 casos calificaron como neumonía aguda a crónica (se estimo con un curso entre 15 a 45 días). Las lesiones mas relevantes incluyeron: fibroplasia interlobular, pleural, y septo alveolar (intersticial), bronquiolitis obliterante, organización alveolar de fibrinosa a fibrosa, hiperplasia de células caliciformes en bronquio, hiperplasia de células cebadas asociadas a fibroplasia, y ocasionalmente metaplasia de células caliciformes en bronquiolos. La mayoría de esos cambios fueron asociados a enfisema y atelectasia. En algunos casos reconocimos las lesiones crónicas con una evidencia concomitante de la inflamación aguda y células sincitiales. La aportación para lo ya existente en la literatura referente a neumonias fue el término neumonía crónica activa. Presentando evidencias que confirman la equivalencia de los cambios aquí reconocidos con los reportados en enfermedad pulmonar crónica obstructiva y Bronquiolitis obliterante-Neumonía organizante en seres humanos.

FIRMA DEL ASESOR: _____



1. INTRODUCCIÓN

Las neumonías son un grupo de enfermedades que representan el problema más relevante en la industria del ganado en corral de engorda (feedlot) (Loneragan *et al.*, 2001; Thompson *et al.*, 2006; Sanderson *et al.*, 2008). Se ha estimado que más de un billón de dólares fue el costo de pérdidas relacionadas por neumonías en las empresas de ganado en corral de engorda (Ramírez Romero y Brogden, 1995). El desarrollo de nuevas vacunas y antibióticos no corresponden a una disminución de la presentación de la enfermedad (Haines *et al.*, 2004). La presencia de secuelas de la lesión neumónica en matadero, en animales tratados o en animales no tratados representan deficiencias en el reconocimiento de animales enfermos y/o pobre eficacia de la terapia instaurada (Thompson *et al.*, 2006). Por lo tanto, las lesiones crónicas y las secuelas derivadas son el grupo más común de lesiones respiratorias en el ganado en corral de engorda afectado por neumonía.

La literatura publicada en esta área es abrumadora. Sin embargo, casi todos los trabajos experimentales se refieren a la patogénesis de las lesiones producidas durante la fase aguda de la infección bacteriana. Al respecto, se ha propuesto que la reacción de Shwartzman, ó el estímulo preparatorio de la reacción de Arthus, provoca las lesiones neumónicas extremadamente severas que caracterizan la fiebre de embarque en ganado en corral de engorda (Ramírez-Romero y Brogden, 2000). Otro factor de virulencia además del lipopolisacárido (LPS) derivado de *Mannheimia haemolytica* es la leucotoxina (Lct) (Ramírez Romero y Brogden, 1995). Recientemente se ha demostrado que estos factores de virulencia pueden activar enzimas tisulares con capacidad para

inducir lesión pulmonar tales como gelatinasas (Starr *et al.*, 2004). Sin embargo, las lesiones crónicas y sus secuelas no han recibido la atención, debido a que han sido pobremente exploradas.

En trabajos previos se determinó en casos naturales de la enfermedad, la edad de las lesiones pulmonares con base a la presencia de cambios histológicos definidos (Daoust, 1989). Estos estudios publicaron que a los 3 días del daño se observaba la presencia de tejido necrótico, a los 5 días se vio la aparición de fibroblastos, a los 7 días la deposición del colágeno, y a los 21 días la evidencia del fibroplasia madura (Daoust, 1989). En otro trabajo más reciente desarrollado en borregos, se establecieron periodos en los que se sacrificaron los animales correspondiendo al curso agudo cuando la enfermedad duraba 1 día, subagudo cuando se sacrificaron a los 15 días y crónico se permitió el curso hasta los 45 días (Ramírez-Romero, 2000; Ramírez-Romero *et al.*, 2001). En dichos periodos de sacrificio se muestra una amplia variación en los cambios patológicos, pero la fibroplasia y la proliferación de las células cebadas pudieron constatarse en los animales sacrificados a los 15 y 45 días (Ramírez-Romero, 2000; Ramírez-Romero *et al.*, 2001). Las lesiones reconocidas para la fase aguda fueron alvéolos llenos de edema rico en proteína y fibrina, acumulación intensa de neutrófilos; también, zonas extensas con hemorragia y necrosis de parénquima. En el periodo de los 15 días las áreas necróticas seguían pero estaban limitadas y se constató la hiperplasia de las células cebadas y el inicio de la fibroplasia intersticial. Uno de los cambios más representativos, registrado a los 45 días, fue la presencia de una bronquiolitis obliterante además de fibroplasia en pleura, espacios interlobulares e intersticio y la presencia de abundantes células cebadas (Ramírez-Romero, 2000;

Ramírez-Romero *et al.*, 2001). La bronquiectasia, la atelectasia y el enfisema también fueron observados comúnmente (Ramírez-Romero, 2000; Ramírez-Romero *et al.*, 2001). Es interesante considerar que la bronquiolitis obliterante es una lesión constante en las enfermedades respiratorias crónicas del humano, particularmente en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) o Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD en inglés) (Jeffery, 2000) así como la Bronquiolitis Obliterante con Neumonía Organizante (BO-NO) o Bronchiolitis Obliterans Organizing Pneumonia (BO-OP en inglés) (Kobzik, 1999).

Tomando en cuenta que varias de las lesiones de Mannheimiosis descritas en los trabajos referidos anteriormente (Ramírez-Romero, 2000; Ramírez-Romero *et al.*, 2001) han sido reportadas en casos crónicos de enfermedades respiratorias en humanos, particularmente como componentes del EPOC y de BO-NO, en este estudio se propone realizar: a) la descripción microscópica de las lesiones crónicas de las neumonías características del Complejo Respiratorio en ganado en corral de engorda y, b) comparar estas lesiones con las descritas en EPOC y BO-NO.

2. LITERATURA REVISADA

2. 1 Condiciones que predisponen a los Bovinos a padecer neumonías

2. 1. 1. Mecanismos de defensa

Los pulmones se encargan del intercambio gaseoso y de otras importantes funciones metabólicas, pero también constituyen una barrera natural entre los animales y su entorno. Los bovinos, en comparación con otras especies animales, tienen menor capacidad respiratoria y por lo tanto los padecimientos pulmonares tienen repercusiones patológicas más severas. Los agentes infecciosos llegan a los pulmones mayormente por vía respiratoria (inhalados) que por vía sanguínea. Por lo tanto, para su protección e integridad tanto anatómica como fisiológica, el tracto respiratorio, necesita eficientes mecanismos de defensa. Los mecanismos inespecíficos actúan indistintamente contra cualquier partícula inhalada, así como también contra estructuras moleculares asociadas a patógenos; mientras que, los mecanismos de defensa específicos actúan contra partículas inmunológicamente activas o inmunodominantes que inducen una respuesta inmune local específica. La propia constitución anatómica del aparato respiratorio superior (fosas nasales, cornetes, naso-faringe, laringe, tráquea y bronquios extra e intra pulmonares) actúa como barrera de defensa al favorecer el impacto de las partículas inhaladas. Se ha estimado que partículas con dimensiones de 20 μm se impactan fácilmente en la mucosa nasal, mientras que otras menores, con dimensiones entre 5 y 10 μm son susceptibles de ser capturadas por este mecanismo a nivel de la tráquea y los bronquios (Ramírez Romero, 1995; Trigo, 1998; López, 2007).

Después de su impacto, las partículas son removidas por el epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado que recubre la mucosa del aparato respiratorio superior; este epitelio se encuentra constituido por células ciliadas y células productoras

de moco (carpetas mucociliar). El moco está compuesto por dos capas sobrepuestas de diferente densidad. La capa más interna se encuentra próxima a los cilios, es menos densa y permite el movimiento ciliar continuo. La capa externa es más densa, favorece la adhesión de las partículas impactadas y se desliza sobre la capa menos densa para dirigirse hacia la faringe y ser deglutida. La tos y el estornudo son mecanismos adicionales que colaboran en la expulsión de las partículas inhaladas. Vale mencionar que el moco contiene sustancias (lisozima, transferrina, defensinas y otras) con una eficiente capacidad bactericida (Ramírez Romero, 1995; Trigo, 1998; López, 2007).

Cuando las partículas son menores de 5 μm , pueden alcanzar el tracto respiratorio inferior (bronquiolos, unión bronquiolo-alveolar y alvéolos). Tanto los bovinos como los humanos son susceptibles a la inhalación de partículas, las cuales son consideradas de alto riesgo para la capacidad de depuración pulmonar. Además debe considerarse que las propias partículas contienen cantidades suficientes de lipopolisacárido bacteriano para inducir una respuesta inflamatoria (Dhakal, 2007).

A nivel de bronquiolos todavía hay células ciliadas pero ya no se encuentran células productoras de moco, en tanto que a nivel de los alvéolos solo existe epitelio simple constituido por neumocitos. Existen dos tipos de neumocitos; los de tipo I son células muy extendidas y aplanadas que permiten el intercambio gaseoso, mientras que los neumocitos tipo II son células cúbicas menos numerosas pero más prominentes y se consideran células inmaduras que evolucionan como neumocitos tipo I. Los neumocitos tipo II se encargan de la producción del surfactante alveolar, el cual está compuesto por una mezcla de fosfolípidos y proteínas que disminuye la tensión superficial en la superficie alveolar (la interfase aire-líquido) facilitando la ventilación al permitir que los

alvéolos mantengan su forma y no se colapsen. Los macrófagos alveolares son las principales células encargadas de los mecanismos de defensa del tracto respiratorio inferior (Ramírez Romero, 1995; Trigo, 1998; López, 2007).

Existen dos tipos de células fagocíticas en el parénquima pulmonar: los macrófagos alveolares y las células intravasculares pulmonares o PIM's (pulmonary intravascular macrophages en inglés). Los macrófagos alveolares son células derivadas primordialmente de monocitos sanguíneos, provenientes a su vez de precursores en la médula ósea y se localizan en el espacio alveolar, mientras que los PIM's se encuentran hacia el interior de los capilares pulmonares. Bajo ciertas condiciones, sobre todo en infecciones bacterianas, la población de macrófagos puede aumentar debido a la producción local de mediadores (citocinas, factores de crecimiento y otros mediadores comunes durante las respuestas inflamatoria e inmune), los cuales tienen efectos estimulantes sobre la hematopoyesis y la maduración de los macrófagos (López, 2007).

La participación del macrófago alveolar en los mecanismos de defensa del pulmón puede ocurrir tanto por mecanismos inespecíficos como por mecanismos específicos (inmunes). En la forma específica pueden fagocitar espontáneamente diversas partículas sin participación de la respuesta inmune; sin embargo, cuando las partículas (bacterias), se encuentran opsonizadas por anticuerpos (IgG) o complemento (C3b), la fagocitosis es aún más suficiente. Los macrófagos alveolares poseen receptores en la superficie de su membrana que les permite reconocer la fracción cristalizable (Fc) de los anticuerpos, luego que se han ligado a su antígeno. Asimismo,

los macrófagos poseen receptores para ciertas fracciones del complemento, particularmente C3b, la cual actúa como una potente opsonina (López, 2007).

Los mecanismos de defensa específicos corresponden a la respuesta inmune adquirida que dependen de los linfocitos. En todo el tracto respiratorio existen agregados linfoides estratégicamente localizados para captar los antígenos que llegan por vía aerógena. La mayoría de los linfocitos dispuestos en agregados corresponden a linfocitos B, los cuales son los encargados de la respuesta inmune dependiente de anticuerpos; sin embargo, también hay linfocitos T subepiteliales y entremezclados con los linfocitos B en los agregados linfoides (López, 2007).

2. 2 Desarrollo de la lesión pulmonar

2. 2. 1 Factores que contribuyen a la presentación de neumonías

A pesar de la efectividad de los mecanismos de defensa pulmonar, algunos factores pueden favorecer la colonización del tracto respiratorio por microorganismos (Ramírez Romero, 1995).

Los factores ambientales como la contaminación del aire, deshidratación, frío excesivo, así como también la mala alimentación y alteraciones metabólicas tienen un efecto perjudicial para el aparato respiratorio, lo que facilita el establecimiento y desarrollo de afecciones respiratorias (Ramírez Romero, 1995).

El polvo en el corral de engorda constituye un factor que predispone a las neumonías. En efecto, la enorme cantidad de partículas suspendidas en el ambiente son consideradas de alto riesgo para la depuración pulmonar (Dhakal, 2007). Estas

partículas presentan una gran cantidad de endotoxinas y se ha demostrado que pueden inducir una reacción inflamatoria pulmonar y fiebre en borregos cuando se administran por vía aerógena (Purdy et al, 2002; Purdy *et al*, 2004).

Otro factor que se asocia con la aparición de neumonías es la nutrición en los animales, ya que se ha demostrado que las deficiencias de vitaminas y minerales traza influyen en la disminución funcional del sistema inmune (Galyean *et al.*, 1999).

Tabla 1. Principales agentes infecciosos asociados con el Complejo Respiratorio Bovino.

VIRUS	BACTERIAS
<u>Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR)*†</u>	<u><i>Mannheimia (Pasteurella) haemolytica</i> A1*</u>
<u>Parainfluenza 3 (PI₃)*†</u>	<i>Pasteurella multocida</i> A*
<u>Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV)*‡</u>	<i>Histophilus somni</i> *
<u>Diarrea Viral Bovina (BVD)*</u>	(<i>Mycoplasma bovis</i> * y <i>Mycoplasma dispar</i> *)
<i>Adenovirus Bovino</i> †	

Los agentes infecciosos de mayor importancia aparecen subrayados. Diarrea Viral Bovina puede participar indirectamente al inmunodeprimir los animales y favorecer la infección bacteriana oportunista; sin embargo, las manifestaciones clínicas de los cuadros infecciosos clásicos incluyen mayormente presentaciones entéricas. Adenovirus Bovino es una infección viral benigna que tiene, por lo común, también manifestaciones entéricas. *Histophilus somni* (antes *Haemophilus somnus*) ocurre como parte del complejo, sin embargo, esta infección bacteriana tiene muchas otras presentaciones, incluyendo la clásica aparición de Meningoencefalitis Tromboembólica y más recientemente miocarditis. *Mycoplasma* aparece entre paréntesis porque una infección pura de estas bacterias generan una neumonía linfoproliferativa más que exudativa; sin embargo estos procesos neumónicos se contaminan fácilmente con las bacterias de mayor importancia en el complejo y, por ende, modifican el proceso inflamatorio original en el pulmón hacia otro de tipo exudativo (bronconeumonía supurativa) que debe ser incluido dentro del Complejo Respiratorio Bovino.

* Agentes infecciosos aislados en México y con amplia distribución de acuerdo a estudios serológicos realizados.

† Agentes infecciosos cuya presencia ha sido demostrada mediante inmunohistoquímica lesiones pulmonares en animales en corral de engorda.

‡ En algunos casos, esta infección viral puede provocar una severa patología pulmonar por sí misma.

2. 3 Agentes infecciosos involucrados

Como ya se ha mencionado, para que se presente el CRB se requiere de la interacción de varios agentes infecciosos. Estos agentes infecciosos pueden ser diferenciados en primarios y secundarios; es decir, en aquellos que intervienen originalmente y en los que, una vez que se ha desarrollado la infección inicial, se presentan luego como oportunistas. Las investigaciones sobre la patogenia del CRB han demostrado que los virus pueden actuar como agentes primarios en tanto que las bacterias como agentes secundarios (Ramírez Romero, 1995). En la Tabla 1 se presentan los virus y las bacterias que pueden actuar en el CRB. Cabe señalar que recientemente se ha publicado un trabajo en México (Sinaloa) que demuestra mediante inmunohistoquímica la presencia de estos agentes virales en las lesiones neumónicas de animales con neumonía fibrinosa en ganado en corral de engorda (Juárez Barranco et al., 2003).

Otros virus tales como *Rhinovirus*, *Enterovirus* y *Reovirus*, se consideran de menor importancia en el CRB. Por otra parte, aunque el virus de la Fiebre Catarral Maligna también afecta el tracto respiratorio de los bovinos, el cuadro clínico y la patología que provoca son tan característicos que su inclusión en el CRB no se justifica (Ramírez Romero, 1995).

En lo que concierne a las bacterias que participan en el CRB, es menester señalar que bacterias tales como *Arcanobacterium* (antes *Corynebacterium*) *pyogenes*, *Streptococcus spp.* y otras, pueden también intervenir, pero su participación es ocasional. Por otra parte, las infecciones respiratorias por *Mycoplasma* (*M. bovis*, *M. dispar*), son consideradas de tipo intersticial y no inician como una neumonía exudativa

sino proliferativa de acuerdo a sus características histopatológicas (Trigo, 1998), se consideran parte del CRB porque se complican fácilmente con las bacterias de mayor importancia y, por lo tanto, convierten la neumonía intersticial en otra de tipo exudativo (bronconeumonía supurativa) que sí debe ser incluida en el CRB.

El término Neumonía Enzoótica también se emplea para referirse a estas neumonías, las cuales se presentan mayormente en becerros hacinados y mantenidos en lugares cerrados con una mala ventilación. Dicho término se refiere a la condición patológica neumónica, la cual se encuentra diseminada en una amplia población de animales (Ramírez Romero, 1995). Cabe señalar que recientemente se ha demostrado que *Mycoplasma bovis* es la bacteria más frecuentemente asociada con neumonías representativas del CRB y que inclusive su participación en las neumonías provoca lesiones más severas y secuelas más graves (Gagea *et al.*, 2006).

2. 4 Patogénesis

Las bacterias involucradas en el CRB pueden ser recuperadas de la mucosa nasal y faríngea de bovinos sanos; sin embargo, bajo ciertas condiciones que disminuyen la capacidad de defensa pulmonar, estas mismas bacterias pueden colonizar el tracto respiratorio inferior, particularmente bronquiolos y alvéolos. Como ya se ha mencionado, estas condiciones adversas pueden ser algún factor estresante, una infección respiratoria viral, o ambos (Ramírez-Romero y Brogden, 1995; López, 2007).

En los bovinos, lo mismo que en otros animales domésticos y de laboratorio, la remoción bacteriana del pulmón es prácticamente total a las 8 horas posteriores a un desafío masivo por aerosoles. Por ejemplo, becerros desafiados con *Mannheimia*

haemolytica, eliminan el 75% de las bacterias inoculadas a las 2 horas, el 90% a las 4 horas y el 92% a las 8 horas. No obstante, cuando previo al desafío bacteriano se infecta a los animales con algún virus (4 o 6 días antes con los virus IBR o PI3, respectivamente), los procesos de depuración pulmonar son incapaces de eliminar las bacterias, provocándose entonces una neumonía (López, 2007). Los mecanismos mediante los cuales se desarrolla este sinergismo virus-bacteria no se han dilucidado totalmente; sin embargo, se asume que el detrimento mayor en los mecanismos de defensa en el pulmón se debe a alteraciones en la actividad del macrófago alveolar. Es probable que uno de los mayores efectos corresponda con un fenómeno de hipersensibilidad de tipo II, también denominado citotoxicidad, el cual ocurre sobre los macrófagos alveolares que expresan antígenos virales en su superficie. Tanto el Herpesvirus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) como los virus de la familia Paramyxoviridae, Parainfluenza-3 (PI₃) y el Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV), son virus envueltos que involucran a la membrana de las células infectadas durante el proceso de gemación. En este caso, resulta paradójico que al momento en que la respuesta inmune humoral comienza a presentarse significativamente (6 a 8 días posteriores al inicio de la infección viral), los anticuerpos dirigidos contra los virus destruyen a los macrófagos que se han convertido precisamente en el blanco de la respuesta inmune, al exponer en su superficie los antígenos virales. Además de lo anterior, los virus pueden ocasionar otras alteraciones en los mecanismos de defensa del pulmón, tales como la destrucción de la carpeta mucociliar, la producción de edema y daño de neumocitos; esto último con consecuencias en la capacidad de intercambio gaseoso y en la producción de surfactante alveolar (Trigo, 1998; López, 2007).

Al parecer, en el caso del Pneumovirus BRSV interviene un componente de Hipersensibilidad de Tipo I. Al respecto, se ha descrito una participación de IgE, células cebadas y las sustancias vasoactivas liberadas por éstas. Es decir, en este caso el virus actúa como alérgeno (Ramírez Romero, 1995; Ramírez Romero y Brogden, 1995). Más recientemente, empleando animales de laboratorio como modelos de infección viral, se ha referido que durante los días posteriores a la infección con el Virus Respiratorio Sincitial, las células endoteliales y los macrófagos alveolares del pulmón, expresan un mayor número de receptores para neuropéptidos (receptor de Substancia P), lo que sugiere una participación del sistema nervioso periférico en la patogenia (Ramírez Romero y Brogden, 1995; Ramírez-Romero *et al.*, 2001).

En lo que concierne a las bacterias, se ha demostrado que éstas son las responsables de la severidad del cuadro clínico en el CRB; de hecho, la mayoría de las infecciones virales sin complicaciones transcurren con manifestaciones clínicas discretas. Las bacterias más importantes en el CRB son *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*. Recientemente también ha tomado relevancia *Histophilus somni* (antes *Haemophilus somnus*), la bacteria causante de Meningoencefalitis Tromboembólica y, como ya se mencionó *Mycoplasma bovis*. Otras bacterias tales como *Arcanobacterium (Corynebacterium) pyogenes* y *Streptococcus spp.*, participan en el CRB sólo ocasionalmente (Gagea, *et al.*, 2006).

Mannheimia haemolytica es la bacteria más frecuentemente aislada de casos naturales de neumonía fibrinosa, el tipo de neumonía más representativo del CRB; en este caso el serotipo de la bacteria es A1. *Pasteurella multocida* tipo A es la bacteria que sigue en importancia y en muchas ocasiones ambas concurren en un mismo caso de neumonía. Vale señalar aquí que los tipos B y E (antígenos capsulares) de

Pasteurella multocida, causantes de septicemia hemorrágica, no han sido aislados en los bovinos en el Continente Americano y, por lo tanto, esta enfermedad debe considerarse exótica (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

Se ha propuesto que previo a la colonización bacteriana del tracto respiratorio inferior, se requiere de una abrupta proliferación del serotipo patógeno A1 que reemplaza al serotipo comensal A2 de *Mannheimia haemolytica*. Esta proliferación masiva ocurriría durante condiciones de estrés y/o infecciones virales y parece ser un prerequisite para que se desarrolle la lesión neumónica (Frank y Duff, 2000; Frank *et al.*, 2002). Existen evidencias para suponer que *Mannheimia haemolytica* A1, a diferencia de los serotipos comensales, expresa en su superficie factores de virulencia que le permiten la adhesión y colonización del tracto respiratorio superior después que ha sido alterado, para luego, a partir de este foco primario de infección, diseminarse hacia el pulmón. Es factible también que la expresión de los factores que permiten adhesión y colonización se encuentre regulada conjuntamente con otros factores de virulencia (Ramírez Romero y Brogden, 1995; Ramírez-Romero y Brogden, 2000). Recientemente se ha demostrado que la administración de los antibióticos tilmicosina (Frank *et al.*, 2000) o florfenicol (Frank *et al.*, 2002) ya sea previo al transporte o al arribo de los animales al corral, disminuye la población de *Mannheimia haemolytica* en la nasofaringe y reducen la incidencia de casos de enfermedad respiratoria.

Los factores de virulencia de *Mannheimia haemolytica* considerados de mayor importancia son la leucotoxina (Lct) y el lipopolisacárido (LPS). La Lct es una exotoxina con capacidad citotóxica sobre leucocitos de rumiantes (incluyendo por supuesto macrófagos). Este efecto selectivo de la Lct quizá explique la virulencia de la bacteria para rumiantes y la falta de patogenicidad para el cerdo y otros animales domésticos.

La Lct de *Mannheimia haemolytica* pertenece a un grupo de toxinas bacterianas denominadas citolisinas formadoras de poros, debido a sus típicos efectos sobre las membranas celulares. Esta toxina está relacionada con la hemolisina de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y la α -hemolisina de *Escherichia coli*. Estas citolisinas constituyen una familia de exotoxinas de bacterias gram negativas (toxinas RTX) codificadas por genes con alta homología (Ramírez Romero, 1995; Ramírez Romero y Brogden, 1995).

Por otra parte, se ha demostrado que los lipopolisacáridos bacterianos, componentes primordiales de la capa exterior de la pared externa de las bacterias gram negativas, pueden ejercer un efecto inflamatorio considerable cuando se instilan en el pulmón. Este efecto inflamatorio también ocurre cuando se emplean los lipopolisacáridos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*, que además, también alteran las propiedades del surfactante alveolar, favoreciendo el desarrollo de la lesión neumónica. Recientemente se ha referido que cuando se inocula *Mannheimia haemolytica* por vía aerógena, su LPS puede atravesar la barrera epitelial e interactuar con las células endoteliales y los macrófagos intravasculares del pulmón. De esta forma, aparte de la participación de mediadores inflamatorios locales (substancias vasoactivas, citocinas y derivados del ácido araquidónico), la intervención de otros sistemas inflamatorios (coagulación, fibrinólisis y cininas) ocurre fácilmente (Ramírez Romero y Brogden, 1995; Ramírez-Romero y Brogden, 2000). Recientemente se ha demostrado que el LPS de *Mannheimia haemolytica* también induce la producción del precursor y la activación de gelatinasa B por parte de las células inflamatorias (macrófagos y neutrófilos) que participan en las lesiones neumónicas. Estas enzimas

podrían explicar la severidad del daño y la posterior estimulación de una reacción de reparación dominada por fibroplasia (Starr *et al.*, 2004).

Entre las citocinas que se han demostrado comúnmente en las lesiones neumónicas inducidas por *Mannheimia haemolytica*, se encuentran el factor de necrosis tumoral (TNF), las citocinas, interleucina 1 (IL-1) e interleucina 8 (IL-8). Estas citocinas tienen una prominente capacidad flogística y también son las principales citocinas producidas durante la inducción de lesiones neumónicas mediadas por la reacción de Arthus (complejos inmunes) y por la reacción de Shwartzman en el pulmón (Ramírez-Romero y Brogden, 2000).

La importancia de los polimorfonucleares (neutrófilos) en el desarrollo del daño pulmonar es tan relevante que cuando se priva experimentalmente a los bovinos de estas células, la severidad de la lesión que se produce, luego de un desafío masivo con la bacteria, se reduce notablemente. De lo anterior se desprende la apreciación de que el macrófago alveolar participa mayormente en la depuración bacteriana e interactúa con las células responsables de la respuesta inmune, en tanto que los neutrófilos son los ejecutores de la respuesta inflamatoria y del daño tisular (Ramírez Romero, 1995; Ramírez Romero y Brogden, 1995). Más recientemente se ha demostrado que las células cebadas tienen una gran importancia en la respuesta inflamatoria aguda del pulmón. En efecto, durante las primeras 6 horas posteriores a un desafío con *Mannheimia haemolytica*, las células cebadas se encuentran degranuladas en los sitios en los que las lesiones histológicas son más severas. Esta observación se acompaña de niveles bajos de histamina en los pulmones afectados y confirma la liberación de mediadores derivados de estas células (Ramírez-Romero *et al.*, 2000; Ramírez-Romero *et al.*, 2001). Cabe señalar que aparte de aminas vasoactivas, las células cebadas

contienen citocinas (TNF, IL-1 y otras) con marcada capacidad flogística (Ramírez-Romero *et al.*, 2001).

Por último, en varios modelos de inflamación pulmonar se ha demostrado recientemente la importancia del sistema nervioso periférico en la generación de una respuesta inflamatoria. Al respecto se sabe que el nervio vago provee de fibras sensorias al pulmón y que estas fibras se encuentran en íntima aposición con ciertas células del tejido pulmonar, particularmente con células cebadas. Cuando estas fibras son activadas liberan varios neuropéptidos, entre los cuales destaca la taquicinina (substancia P). Se ha demostrado que la substancia P es el principal mediador en la inflamación neurogénica inducida en piel, vejiga, intestino, pulmón y otros tejidos. Este mediador ejerce su acción sobre diversas células (linfocitos, macrófagos y neutrófilos, entre otras) a través de receptores específicos; sin embargo, las principales células involucradas en la inflamación neurogénica son las células cebadas. En las lesiones pulmonares agudas causada por *Mannheimia haemolytica*, se ha demostrado que las fibras sensorias pulmonares se encuentran con una cantidad escasa de substancia P, probablemente debido a una liberación masiva del neuropéptido, pero lo más importante es que bajo estas condiciones los macrófagos alveolares también producen substancia P. De esta forma, la producción extraneural de substancia P podría explicar la generación de un intenso estímulo flogístico donde las células cebadas resultan activadas, liberando una gran cantidad de mediadores inflamatorios, los que a su vez, favorecen una exagerada infiltración de neutrófilos y daño tisular (Ramírez-Romero, 2000; Ramírez-Romero *et al.*, 2001).

2. 5 Clasificación de las lesiones pulmonares neumónicas

La lesión más representativa del CRB es la neumonía. Aunque hay diferentes tipos de neumonías las lesiones pulmonares en los casos de CRB tienen ciertas peculiaridades que permiten su identificación en la mayoría de los sistemas de clasificación. Se han empleado diferentes criterios para clasificarlas; sin embargo, aquí se presentará la fundamentada en la distribución y el tipo de lesiones exudativas, tomando en cuenta siempre la anatomía pulmonar; esta clasificación se denomina anatomo-patológica. Los criterios para asignar determinada nomenclatura a las neumonías de los bovinos son: distribución y extensión de la lesión, textura de las zonas afectadas y tipo de exudación (López, 2007).

La distribución es muy importante y proporcionará de inmediato una idea de la ruta de infección. Por ejemplo, la distribución craneoventral de las lesiones se refiere a los lóbulos apicales (craneales) afectados en las áreas inferiores (ventrales). Este patrón de distribución ocurre cuando las infecciones llegan al pulmón por vía aerógena; en los casos más severos las lesiones se extienden hacia los lóbulos medio y accesorio en el pulmón derecho. Es importante señalar que en estos casos el pulmón derecho siempre se encuentra más afectado que el izquierdo porque el lóbulo craneal recibe un bronquio que parte directamente de la tráquea antes de la bifurcación traqueal. La distribución difusa afecta en su totalidad al pulmón, es decir afecta todos sus lóbulos, incluyendo los caudales (diafragmáticos) y por lo general indica que la exposición al agente patógeno ocurrió por vía sanguínea (hematógena). La distribución focal o multifocal se refiere a que las lesiones se presentan indistintamente en cualquier parte del pulmón, si bien estas lesiones son circunscritas y no afectan la totalidad del pulmón como en el caso anterior. Por lo general la distribución focal o multifocal ocurre cuando

el agente patógeno llega a los pulmones por vía sanguínea. La extensión de la lesión es también importante porque en muchos casos pueden reconocerse lesiones neumónicas discretas, que abarcan solamente el 10 o 15% del total de ambos pulmones y no deben ser consideradas siquiera como lesiones que causen signos clínicos en el animal, sino como hallazgos incidentales. Para que a una lesión neumónica se le pueda atribuir gravedad suficiente como para causar signos clínicos en el animal afectado, se requiere de por lo menos un 30% del área pulmonar afectada y de un 50% o más para considerarla como causa de muerte. No obstante, en muchos casos las lesiones pulmonares son microscópicas y no puede establecerse la extensión de la lesión de manera precisa a simple vista (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

La textura de las zonas afectadas puede ser firme, elástica o nodular. En muchos casos la textura firme se refiere como zona de consolidación (también conocida como hepatización) porque durante los eventos inflamatorios se acumulan exudados e infiltraciones celulares que confieren mayor firmeza a la zona afectada. Por lo general, las muestras de tejido pulmonar que se colectan de estas zonas de consolidación se hunden cuando se depositan en el frasco con fijador (formalina u otros) para el proceso histológico. Los pulmones con una consistencia más elástica que la normal, tienen una textura semejante a la de materiales de látex; por lo general estos pulmones también se encuentran pesados y distendidos (sin colapso). Esto se debe a que existe una proliferación de parénquima (células epiteliales) y probablemente también de estroma (tejido conectivo fibroso y vasos sanguíneos) en el pulmón. La textura nodular se refiere a focos de consistencia firme o dura, bien delimitados, que pueden inclusive sobresalir del contorno normal del pulmón. Por lo general estas lesiones se asocian con padecimientos crónicos (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

El reconocimiento del tipo de exudado es también muy importante para clasificar las neumonías. Este puede ser, por lo general, seroso, catarral, purulento o fibrinoso. El exudado seroso corresponde con edema y, aunque no contiene todos los componentes inflamatorios que se presentan cuando la lesión inflamatoria pulmonar es más severa, es por lo general rico en proteína porque la barrera alvéolo-capilar es muy frágil y sensible a cualquier insulto. Los pulmones edematosos son pesados y no colapsan; además, cuando el edema pulmonar es severo, el abundante líquido edematoso forma una densa y persistente espuma que rezuma por la tráquea al contacto con el aire (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

El exudado catarral se refiere a un exudado compuesto mayormente por moco; en muchos casos este tipo de exudado debe considerarse muco-purulento porque también contiene abundantes neutrófilos. Los exudados catarrales son comunes en las neumonías verminosas (*Dictyocaulus viviparus*), en tanto que los exudados purulentos son la característica de muchas neumonías bacterianas. Los exudados purulentos por lo general se acumulan en los bronquios, llegando inclusive a distenderlos y obliterarlos (bronquiectasia). En ciertas ocasiones los exudados purulentos se encuentran bien circunscritos por tejido fibroso, tal y como sucede con los abscesos. Este tipo de lesiones se puede presentar como una secuela de bronquiectasia o como verdaderos abscesos en una neumonía embólica. Por otra parte, cuando la lesión es nodular y los nódulos contienen un exudado purulento de aspecto caseoso con áreas de calcificación, se refiere por lo general a lesiones piogranulomatosas (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

El exudado fibrinoso se reconoce sobre la superficie pleural (pleuritis) y puede variar desde una discreta acumulación que confiere a la pleura un aspecto opaco, con

tenues estrías de fibrina, hasta un abundante exudado fibrinoso que recubre el pulmón y forma coágulos de fibrina en la cavidad torácica. Este tipo de lesión siempre deja secuelas que se presentan como adherencias de tejido fibroso entre las pleuras parietal y visceral, involucrando por lo general también al pericardio. En la Tabla 2 se presenta un resumen de las características generales de los diferentes tipos de neumonías en los bovinos (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

Las neumonías del CRB tienen siempre una distribución craneoventral y las áreas afectadas siempre se encuentran consolidadas. La extensión puede variar; en los casos fulminantes las lesiones macroscópicas son extensas (>40%), mientras que en los animales que reciben tratamiento o son destinados a sacrificio por bajo rendimiento, las áreas afectadas representan un 30% o menos. El tipo de exudado también puede variar. Se estima que cuando en la lesión neumónica interviene *Mannheimia haemolytica* las lesión exudativa es de tipo fibrinoso, en tanto que, con la participación de *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* y las otras bacterias de menor importancia en el CRB, la exudación es de tipo purulento (supurativo). En el primer caso la lesión neumónica se describe como neumonía, o quizá más propiamente, pleuroneumonía fibrinosa, mientras que en el segundo se trata de bronconeumonía supurativa (Ramírez Romero, 1995; López, 2007). Recientemente se ha referido que la participación de *Mycoplasma spp* en las lesiones produce una lesión bronconeumónica con zonas de necrosis caseosa (Gagea *et al.*, 2006).

Tabla 2. Clasificación Anatomopatológica de las Neumonías en los Bovinos (López, 2007).

TIPO DE NEUMONÍA	VÍA DE ENTRADA	DISTRIBUCIÓN Y MORFOLOGÍA DE LAS LESIONES	CARACTERÍSTICAS DEL EXUDADO	POSIBLES ETIOLOGÍAS	
NEUMONÍA (PLEURONEUMONÍA) FIBRINOSA*	Aerógena	Craneoventral Lobular	Serofibrinoso o Fibrinopurulento	PI ₃ , IBR, BRSV, <i>Mannheimia</i> (<i>Pasteurella</i>) <i>haemolytica</i>	
BRONCONEUMONÍA SUPURATIVA*	Aerógena	Craneoventral Lobulillar	Purulento o Mucopurulento	PI ₃ , IBR, BRSV, <i>Mycoplasma</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Haemophilus sommnus</i> Otras	S
NEUMONÍA INTERSTICIAL	Variable, puede ser sanguínea o hematógena	Variable, dependiendo de la vía de entrada Pulmones pesados, sin colapso y con áreas de enfisema	Variable, por lo general presentan una gran cantidad de edema	BRSV Tryptofano → 3 Metil-Indol Otras	Pr

NEUMONÍA GRANULOMATOSA	Variable, puede ser aerógena o hematógena	Focal o Multifocal Nodular (granuloma)	Exudado caseoso y calcificado, circunscrito en granulomas	<i>Mycobacterium</i> <i>Actinobacillus</i> <i>Coccidioides</i> Otras	N
NEUMONÍA EMBÓLICA	Hematógena	Focal o Multifocal Nodular (absceso)	Exudado purulento circunscrito en abscesos	<i>Fusobacterium</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Actinomyces</i> Otras	N

*Neumonías representativas del Complejo Respiratorio

Las lesiones microscópicas, son las que finalmente definirán el tipo de lesión neumónica con base en los cambios histológicos. Para la neumonía (pleuroneumonía) fibrinosa, las lesiones microscópicas más relevantes incluyen una severa pleuritis fibrinosa o fibrinopurulenta. Distensión de los espacios interlobulillares con presencia de edema y trombosis de los vasos linfáticos. Los bronquios y bronquiolos aparecen con necrosis del epitelio y eventualmente, con un exudado fibrinopurulento. Congestión y hemorragias en septos alveolares. Los alvéolos aparecen repletos de un exudado serofibrinoso o fibrinopurulento que no permite distinguir la arquitectura normal del tejido. Eventualmente se identifican colonias de bacterias en estas áreas. En las zonas más dañadas aparecen extensas áreas de necrosis coagulativa y hemorragias, parcialmente limitadas por bandas de neutrófilos arremolinados. En estas zonas de mayor daño se puede apreciar también necrosis fibrinoide, vasculitis y trombosis de pequeños vasos sanguíneos. Cabe señalar aquí que, con base en las lesiones pulmonares y tomando en cuenta su similitud con las lesiones que se inducen con el lipopolisacárido (endotoxina) de *Mannheimia haemolytica* mediante las reacciones de Arthus y Shwartzman en el pulmón del conejo, se ha sugerido que estos fenómenos inflamatorios pudieran participar en la patogenia del CRB (Ramírez-Romero y Brogden, 2000). Esta neumonía se describe como Neumonía Aguda Exudativa Intersticial (Neumonía Fibrinosa) en la clasificación histopatológica propuesta por Trigo (1998).

Cuando la lesión pulmonar es de tipo bronconeumonía supurativa, las lesiones histológicas cambian considerablemente. En estos casos se observa una marcada acumulación de neutrófilos y detritus celulares en el lumen de bronquios y bronquiolos. El epitelio bronquial y bronquiolar se encuentra por lo general proliferado y no es raro reconocer una marcada hiperplasia del tejido linfoide adyacente a las grandes vías

respiratorias (peribronquial y peribronquiolar). Los septos alveolares se encuentran engrosados debido a la congestión y en muchos casos también a la proliferación del epitelio alveolar. Asimismo, algunos espacios alveolares se hayan ocupados por conglomerados de neutrófilos y detritus celulares. Trigo (1998) ha referido a estas neumonías como Neumonía Aguda Exudativa Bronconeumonía. En muchas ocasiones, como ya se mencionó, estas neumonías inician como Neumonías Intersticiales Linfoproliferativas cuando la infección inicial es *Mycoplasma spp.* Pero se transforma en Bronconeumonía con la participación de otras bacterias (Ramírez Romero, 1995; López, 2007).

Como se ha visto, las bacterias son las que contribuyen mayormente a establecer el patrón inflamatorio de daño pulmonar; sin embargo, eventualmente pueden identificarse algunas evidencias histopatológicas que indiquen la participación viral en la lesión. Los cuerpos de inclusión son probablemente las evidencias histopatológicas más contundentes. Cuando los cuerpos de inclusión se presentan en el citoplasma de las células del epitelio bronquial y bronquiolar, así como en macrófagos alveolares, puede tratarse de alguna infección por virus de la familia Paramyxoviridae, ya sea PI3 o BRSV. Estas inclusiones son eosinofílicas intracitoplásmicas, aunque también se pueden observar en el interior del núcleo (intranucleares). En estos casos también se aprecian sincitios; es decir, la coalescencia de células epiteliales para formar células gigantes multinucleadas, las cuales son más frecuentes en las infecciones con el BRSV. La formación de sincitios es el resultado de la acción de una glicoproteína presente en la envoltura de estos virus (Proteína F), que tiene como función inducir la fusión de las células infectadas para facilitar su diseminación. Por otra parte, pueden observarse cuerpos de inclusión intranucleares en células del epitelio del

tracto respiratorio superior en casos de IBR (Ramírez Romero, 1995). Como ya se mencionó, en un estudio realizado en corrales de engorda en Sinaloa, se demostró mediante inmunohistoquímica que en las lesiones se encontraron involucrados los virus PI3 (66.6%), BRSV (54.1%) e IBR (33.3%) (Juárez Barranco *et al.*, 2003).

2.6 Analogías entre las lesiones pulmonares crónicas del Complejo Respiratorio Bovino y las enfermedades pulmonares crónicas de origen infeccioso en el humano

2.6.1 Complejo Respiratorio Bovino

Las neumonías constituyen un grupo de padecimientos de gran importancia en el ganado bovino. El término Complejo de la Enfermedad Respiratoria del Bovino o Complejo Respiratorio Bovino (CRB) se emplea para describir los casos de neumonía infecciosa de tipo exudativo (bronconeumonía supurativa o pleuroneumonía fibrinosa). El CRB se refiere únicamente a ciertos padecimientos neumónicos exudativos con características patológicas particulares. Dentro del CRB se incluyen solo las neumonías exudativas de índole bacteriano resultantes de alteraciones en los mecanismos de defensa del pulmón (Ramírez Romero, 1995).

Los microorganismos responsables del CRB son virus, bacterias y su interacción virus-bacteria. Entre los agentes virales involucrados se encuentran: Herpes virus bovino 1 responsable de la IBR, VPI3 y VRSB (Ramírez Romero, 1995).

Como ya se mencionó, la literatura que refiere las lesiones y los mecanismos patológicos que subyacen durante las lesiones exudativas de las neumonías representativas del CRB son abrumadoras, pero sólo en dos referencias se detalla la

evolución del daño pulmonar después de la lesión aguda. En un estudio realizado en casos naturales en bovinos, los indicadores del curso o edad de la lesión fueron asignados de la siguiente manera: parénquima necrótico, se presentó en 3 días; presencia de fibroblastos entre los 4 y 5 días; depósito de fibras de colágena, a los 7 días y, la presencia de dichas fibras con birrefringencia bajo la observación de luz polarizada, a los 21 días (Daoust, 1989). En otro estudio realizado experimentalmente en corderos desafiados con *Mannheimia haemolytica*, se establecieron tres etapas en el desarrollo de la lesión en los siguientes días 1, 15 y 45, considerando un curso agudo, subagudo y crónico, respectivamente (Ramírez-Romero *et al.*, 2001).

Las características histopatológicas correspondientes a estas etapas fueron para el primer día una neumonía con extensas áreas de edema rico en proteína inundando alvéolos, acompañadas de una marcada infiltración de neutrófilos; asimismo, zonas de hemorragia y necrosis. Adicionalmente, las células cebadas fueron escasas y las que se observaron se encontraban necróticas o degranuladas. El día 15 se observaron cambios variables, desde extensos focos de necrosis con características piogranulomatosas, así como una proliferación del epitelio bronquiolar y alveolar. La fibroplasia fue evidente en la pleura y los espacios interlobulillares, aunque también delicadas fibras de colágena se observaron en intersticio. Las células cebadas fueron numerosas y asociadas a la fibroplasia, tanto en intersticio alveolar como en la pleura y los espacios interlobulillares. Para el día 45, los cambios epiteliales en bronquiolos y alvéolos se mantuvieron, pero también apareció la organización de los cambios proliferativos en los bronquiolos (bronquiolitis fibrosa obliterante), zonas de atelectasia y enfisema alternando con lobulillos sin cambios. Además, una marcada definición del tejido conectivo fibroso proliferado, tanto en pleura como en espacios interlobulillares,

así como en la periferia de los bronquiolos afectados. Las células cebadas fueron aún más abundantes en los sitios en donde se reconoció la fibroplasia. Además, numerosos macrófagos se encontraban activos en la luz alveolar (Ramírez-Romero *et al.*, 2001). Aún asumiendo que los criterios histopatológicos descritos son útiles para el propósito de determinar el curso de las lesiones pulmonares en las neumonías representativas del CRB, su mayor utilidad sería en determinar la tendencia en el curso de los casos representativos del problema o brote y no la determinación precisa del curso en casos específicos (Daoust, 1989).

Cabe señalar que en un estudio reciente se realizó la clasificación de las lesiones neumónicas basándose en los cambios macroscópicos; sin embargo, la clasificación tuvo que adaptarse durante el transcurso del estudio porque en algunos casos las lesiones no ofrecían peculiaridades para incluirse en grupos determinados (Booker *et al.*, 2008).

2. 6. 2 La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

La EPOC se refiere a un grupo de lesiones de las vías respiratorias que tienen en común provocar disnea en los pacientes como resultado de la obstrucción en las vías aéreas intra-pulmonares (Kobzik, 1999). Entre las patologías incluidas se encuentran bronquitis crónica, bronquiectasia, bronquiolitis crónica, enfisema y asma (Kobzik, 1999). Jeffery (2000) incluye bronquitis y bronquiolitis crónicas y enfisema, pero separa asma de la EPOC; si bien, se acepta que puede haber componentes asmáticos (hipersensibles, atópicos) en casos de bronquitis crónica (Kobzik, 1999; Jeffery, 2001; Jeffery, 2004). Esta divergencia puede explicarse por las dos corrientes

académicas que explican el desarrollo de las lesiones. La corriente Británica sostiene que la EPOC y el asma son entidades diferentes y ocurren por distintos mecanismos, mientras que la corriente Germana propone una gama de lesiones en una patogénesis común pero con una tendencia hacia EPOC o asma la cual se traslapa (Elias *et al.*, 2006). Es muy probable que la edad en la que se presenta el daño inicial influya en la evolución del mismo. Por ejemplo, no se sabe a ciencia cierta si el daño en niños sea más grave que en adultos o si la lesión evolucione favorable o desfavorablemente (Tiddens *et al.*, 2000). Se ha propuesto que, en términos generales, las lesiones que se presentan en la EPOC y el asma son el resultado de eventos de inflamación y remodelación inadecuados que terminan en la persistencia de los daños pulmonares (Jeffery, 2001; Jeffery, 2004; Saetta y Turato, 2001; Postma y Timens, 2006), primordialmente por alteraciones de la matriz extracelular (Postma y Timens, 2006). Se asume que en la mayoría de los casos, las lesiones limitantes son reversibles en asma mientras que en la EPOC son irreversibles debido a la destrucción y fibroplasia del parénquima pulmonar (Saetta y Turato, 2001). En la Tabla 3 se presenta un resumen de las lesiones asociadas con la remodelación en Asma y en la EPOC (Jeffery, 2004).

2. 6. 3 La Bronquiolitis Obliterante con Neumonía Organizante

La lesión inicial en la BO-NO (Bronchiolitis Obliterans-Organizing Pneumonia en inglés) es primordialmente sobre el epitelio alveolar y en menor grado sobre el endotelio (Cordier, 2006). La bacterias más frecuentemente involucrada en los casos con etiología específica (Oymak y cols. 2005) son neumococos (*Streptococcus pneumoniae*) (Cordier, 2006), que a su vez, corresponde con la bacteria más

frecuentemente asociada con casos de neumonía de distribución lobar en humanos (Kobzik, 1999). En medicina veterinaria las neumonías con distribución lobar en bovinos corresponde con las bronconeumonías fibrinosas causadas principalmente por *Mannheimia haemolytica*, la neumonía más representativa del CRB (Ramírez-Romero y Brogden, 2000; Lopez, 2007). En medicina la BO-NO de origen bacteriano (secundaria) ha pasado a segundo término porque la terapia de las infecciones pulmonares es por lo general eficiente; en cambio los casos idiopáticos o criptogénicos se consideran más relevantes (Cordier, 2002; Chee *et al.*, 2005). En la Tabla 4 se presenta un listado de las principales causas de BO-NO.

Tabla 3. Resumen de lesiones de remodelación

LESIÓN	ASMA	EPCO
Engrosamiento de la pared	++	++ (SA)
Engrosamiento de la membrana basal*	+++	-
Incremento de glándulas en submucosa	++	++
Incremento de células caliciformes	++ (LA)	++ (M,SA)
Engrosamiento del músculo liso*	++ (LA,SA)	++ (SA)
Aumento de vasos bronquiales	+	?
Aumento de colágena en intersticio	+	++
Enfisema*	-	++
Principal localización anatómica	LA	SA, alvéolos

LESIÓN	CRB	EPOC	NCR
Bronquitis	+++	+++	a
Bronquiectasia	+++	+++	a
Hiperplasia/metaplasia de células caliciformes	+++	+++	a
Bronquiolitis obliterante	++	++	++
Epitelialización alveolar	+++	b	+++
Enfisema/Atelectasia	+++	++	a
Consolidación	+++	b	+++
Fibrina y detritus en alvéolos	+++	b	+++
Fibrosis organizada en alvéolos bronquiolos e intersticio	+++	b	+++
Presencia de células cebadas	++	++	++
Pleuritis	+++	b	+++
Neovascularización	+++	b	+++
Etiología bacteriana	+++	+	+

Vías aéreas grandes (LA), Vías Aereas Medianas (M), Vías aéreas pequeñas (SA), Cuestionable (?), Pequeño (-), Escaso (+) Moderado (++) , Grande (+++), abundante, Diferencia clave entre Asma y EPCO (*) (Jeffery, 2004).

Tabla 4. Algunas causas y condiciones relacionadas con la presentación de Neumonía Crónica

Restaurativa (Cordier, 2006; Cordier, 2002).

^a Su inconsistencia se refiere a que no en todos los casos la NCR fue precedida por lesiones en vías aéreas (bronquitis y bronquiolitis). ^b Su inconsistencia se refiere a que no en todos los casos la EPOC fue la antecesora de lesiones pulmonares n NCR. Muy constante (+++), Regularmente (++) y Poco constante (+)

La evolución de la BO-NO ha sido dividida en tres etapas. La primera se caracteriza por la acumulación de material intra alveolar compuesto primordialmente por

fibrina y células inflamatorias (linfocitos principalmente, algunos neutrófilos, células plasmáticas y células cebadas) con algunos macrófagos activos. La segunda etapa se caracteriza por la organización de las bandas de fibrina con menor participación de células inflamatorias y participación de fibroblastos activos que colonizan la matriz de fibrina. En esta etapa también se aprecia la re epitelialización alveolar. La tercera etapa consiste en la presencia de tejido fibroso maduro organizado de manera concéntrica y laminada con escasas células inflamatorias. La matriz de estos conglomerados intra alveolares y bronquiolares es colágena de tipo III en su mayoría con fibronectina y con menor participación de colágena tipo I. Otro cambio importante es la formación de capilares con conglomerados semejante al tejido de granulación en la restauración cicatrizal (Cordier, 2006). Estos cambios guardan una estrecha similitud con las lesiones reportadas en borregos sometidos a un desafío intrabronquial con *Mannheimia haemolytica* y sacrificados en las etapas subaguda y crónica de la lesión pulmonar (Ramírez-Romero *et al.*, 2001). En la Tabla 5 se presenta una comparación de las lesiones entre las enfermedades pulmonares del humano discutidas previamente y el CRB.

Por último, cabe señalar que las lesiones que se observan en la BO-NO aún se consideran reversibles y que en la mayoría de los casos, los pacientes mejoran notablemente al poco tiempo de la administración de corticosteroides (Cordier, 2002; Cordier, 2006). En el CRB se ha observado una notable mejoría

BACTERIAS	VIRUS	HONGOS	PARÁSITOS	DROGAS / FÁRMACOS
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Herpes	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Plasmodium vivax</i>	Ácido aminosalicílico
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cytomegalovirus	<i>Pneumocystis jiroveci</i>	<i>Dirofilaria immitis</i>	Amiodarona
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Influenza			Anfotericina B
<i>Serratia marcescens</i>	Parainfluenza			Bleomicina
<i>Legionella pneumophila</i>	Respiratorio Sincitial			Cefalosporina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				Interferon
<i>Burkholderia cepacia</i>				L-triptofano
<i>Chlamydia pneumoniae</i>				Metothrexato
				Nitrofurantoina
				Sulfasalacina

Tabla 5. Comparación de las lesiones pulmonares microscópicas reconocidas en el CRB, EPOC y NCR.

y menor severidad de las lesiones neumónicas cuando se administran anti-inflamatorios no esteroideos en las etapas tempranas de la lesión pulmonar y se estima que las terapias tardías no tienen un efecto favorable porque las lesiones crónicas son permanentes (Friton *et al.*, 2004; Friton *et al.*, 2005); no obstante, aún no se desarrollan trabajos en animales para evaluar la evolución de las lesiones crónicas ante la administración de anti-inflamatorios de cualquier tipo.

2. 7 Objetivo

Establecer las características histológicas de las lesiones crónicas en bovinos en corral de engorda con cuadros clínicos confirmados de neumonía y compararlas con las lesiones descritas en casos de bronquitis y neumonías crónicas en humanos.

2. 7. 1 Objetivos particulares

1.- Determinar la distribución de las células cebadas en las lesiones neumónicas crónicas de bovinos con enfermedad respiratoria.

2.- Determinar el grado de fibroplasia en el tejido pulmonar de bovinos con neumonía crónica representativa de la enfermedad respiratoria.

3.- Determinar la presencia de células caliciformes activas en las lesiones neumónicas crónicas de bovinos con enfermedad respiratoria.

4.- Establecer analogías histológicas entre las lesiones neumónicas crónicas de bovinos en corral de engorda y la EPOC y BO-NO en humanos.

2. 8 Hipótesis

Las lesiones microscópicas en los casos crónicos de CRB guardan similitud con las enfermedades respiratorias crónicas de los humanos.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se utilizaron muestras de pulmones neumónicos de bovinos en corral de engorda. En el material de estudio se incluyeron muestras de pulmones de bovinos confirmados clínicamente de padecer enfermedad respiratoria de acuerdo con un protocolo de observación clínica y que fueron sacrificados como representativos del problema después de 7 días de observación (Friton *et al.*, 2004). Los datos del protocolo de observación se presentan en el Tabla 6. Estas muestras forman parte de la colección de casos del Laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia ubicado en Monterrey, N. L.

3. 1 Colección de muestras.

Treinta y dos casos representativos para neumonía exudativa en ganado en corral de engorda fueron utilizados. Las muestras correspondieron a los decesos o eutanasias del ganado en corral de engorda fueron clínicamente detectados como neumonía por los veterinarios a cargo y que recibieron el tratamiento correspondiente. Las lesiones observadas en este trabajo corresponden con las descritas por López

(2007) en el cual se consideran exclusivamente: a) bronconeumonía supurativa y b) bronconeumonía fibrinosa. Cuando estas neumonías incluían los cambios microscópicos referido por Ramírez *et al* (2001) las lesiones a los días 15 (sub agudo) y a los 45 días (crónica), los casos fueron incluidos. Usando este criterio, solamente 22 casos

con lesiones de neumonía sub aguda a crónica fueron incluidos. Los 10 casos restantes fueron considerados como neumonías agudas (bronconeumonías fibrinosas) con un curso menor de 15 días y fueron descartadas para el estudio.

3. 2 Procedimiento de histoquímica

Las muestras fueron procesadas rutinariamente, fijadas en formol al 10% (Hopwood, 2002), embebidas en parafina, seccionadas a 5 µm (Anderson and Bancroftm 2002), y teñidas con H&E (Gamble and Wilson, 2002), PAS/Azul de Alciano (Totty, 2002), Azul de Toluidina a pH bajo (Ramírez-Romero et al., 2000), Tricrómica de Masson (Jones, 2002). Ver apéndices 1, 2, 3 y 4. Las tinciones fueron destinadas para

el reconocimiento de cambios histológicos de rutina, presencia de células caliciformes, células cebadas, y tejido conectivo, respectivamente.

3. 3 Observación de las muestras.

Las muestras fueron observadas en un microscopio Zeiss con los objetivos de 10x, 25x, 40x y 100x; los cambios fueron registrados considerando una asignación subjetiva de la intensidad de las lesiones y/o el número de células infiltrativas. Los criterios utilizados fueron como: discreta/poco (+), moderada/regular (++) y severa/mucho (+++). Después de la revisión, los campos representativos fueron seleccionados y fotografiados utilizando una cámara digital Canon Power Shot A630 de 8 MP con ASA 400 y con una exposición de 0.0600 segundos.

4. RESULTADOS

4. 1 Lesiones

Las lesiones en pulmones observadas más frecuentemente en todos los casos siguiendo un orden de severidad, fue la fibroplasia en los espacios perilobulares, pleura e intersticio de los septo alveolares (Figura 1). En la pleura la fibroplasia estuvo siempre acompañada por un infiltrado linfoide. Otros cambios que se observan en el parénquima de manera constante fueron la atelectasia y el enfisema. En 19 de los casos (19/22) la bronquiolitis obliterante fue un cambio evidente (Figura 2). La hiperplasia del epitelio con marcada proliferación de células caliciformes estuvo presente en 18 casos (18/22) (Figura 3). La infiltración de células cebadas, siempre asociadas con fibroplasia, fue demostrado en 19 (19/22) (Figura 4). Otro cambio característico fue la bronquiectasia en 6 casos (6/22). La metaplasia de las células caliciformes en bronquiolos fue observada en 3 casos (3/32). También se observó la presencia de células sincitiales, en cualquier espacio alveolar o como parte del la hiperplasia epitelial en bronquiolos (4/22) (Figura 5). En la Tabla 7 se muestran los resultados de las observaciones histopatológicas, con las distintas tinciones especiales observadas en microscopía de luz a 20x, presentes en las muestras obtenidas de los bovinos en corral de engorda con problemas de bronconeumonías.

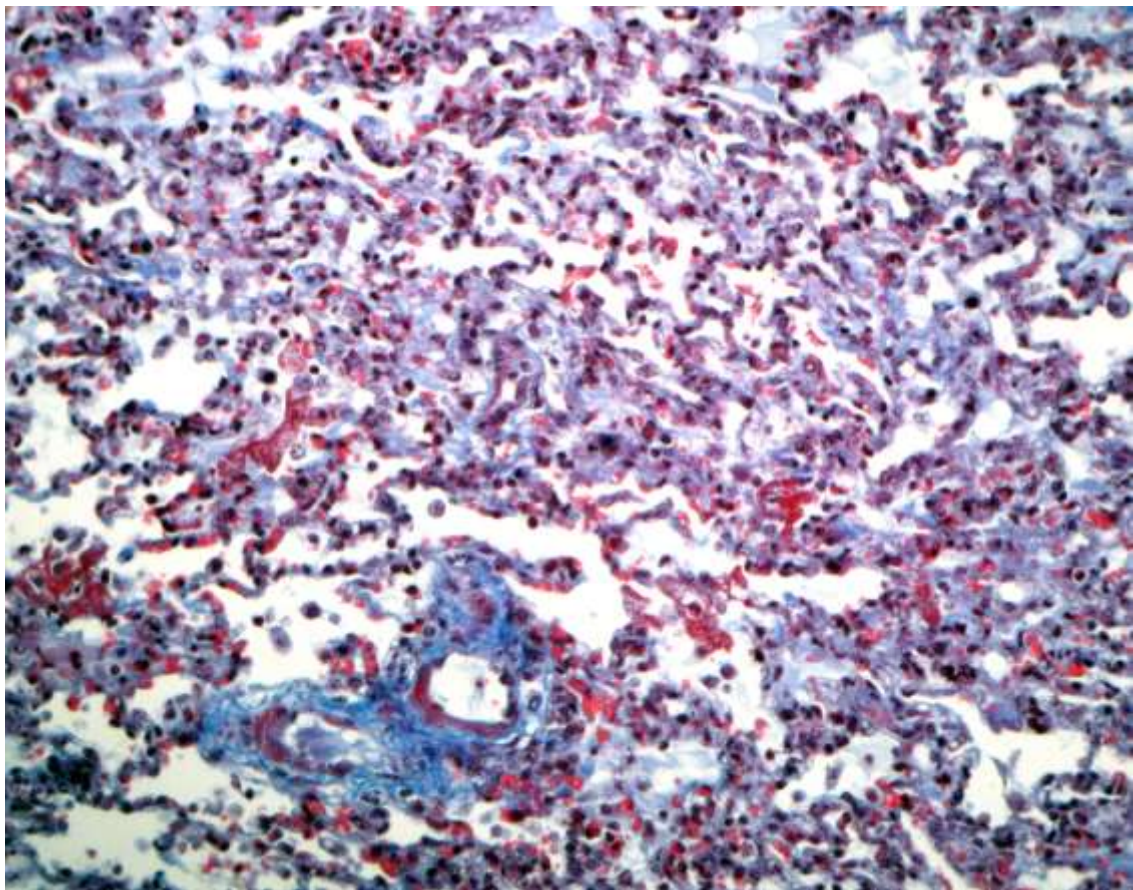
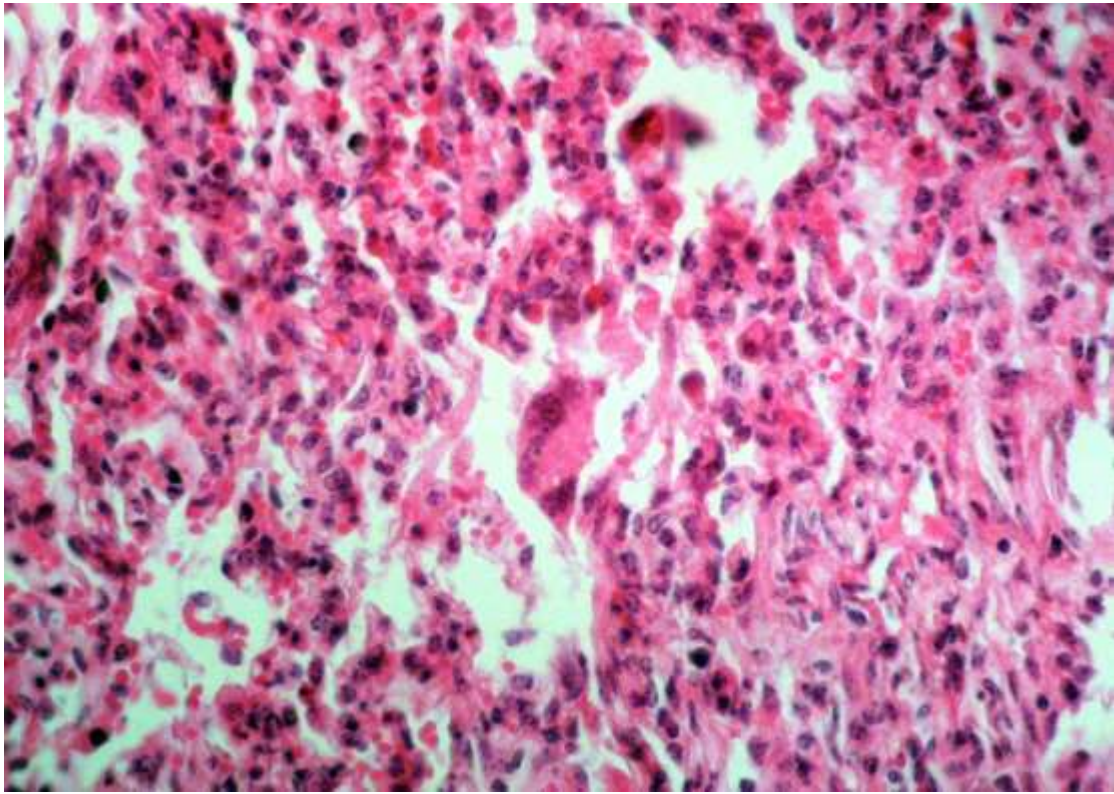


Figura 1. La fibroplasia fue la lesión más obvia en los espacios perilobulillares, pleura e intersticio (septo alveolar) en ese orden. **A.** Fibroplasia intersticial y atelectasia. H&E, 20x . **B.** Fibroplasia intersticial inicial, más evidente en la periferia de los vasos sanguíneos. Tricrómica de Masson, 20x.

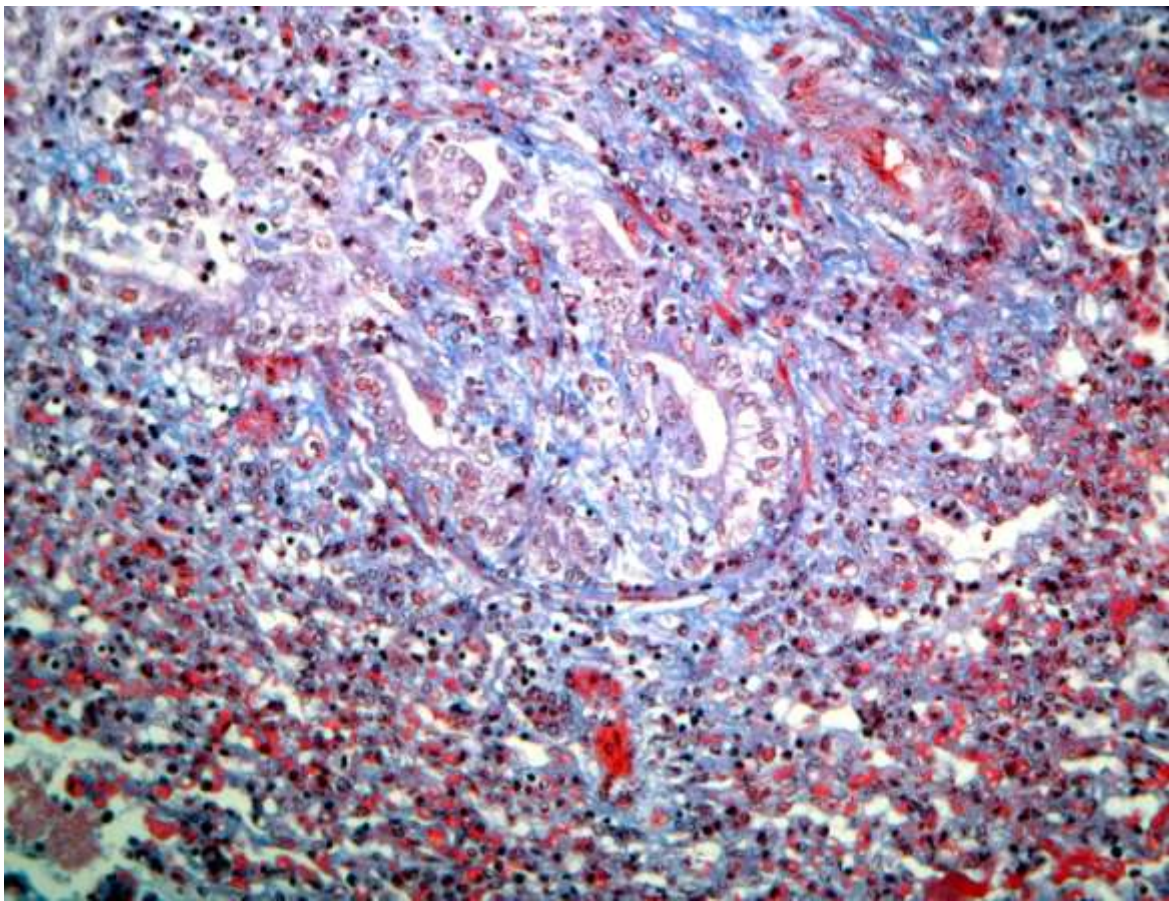
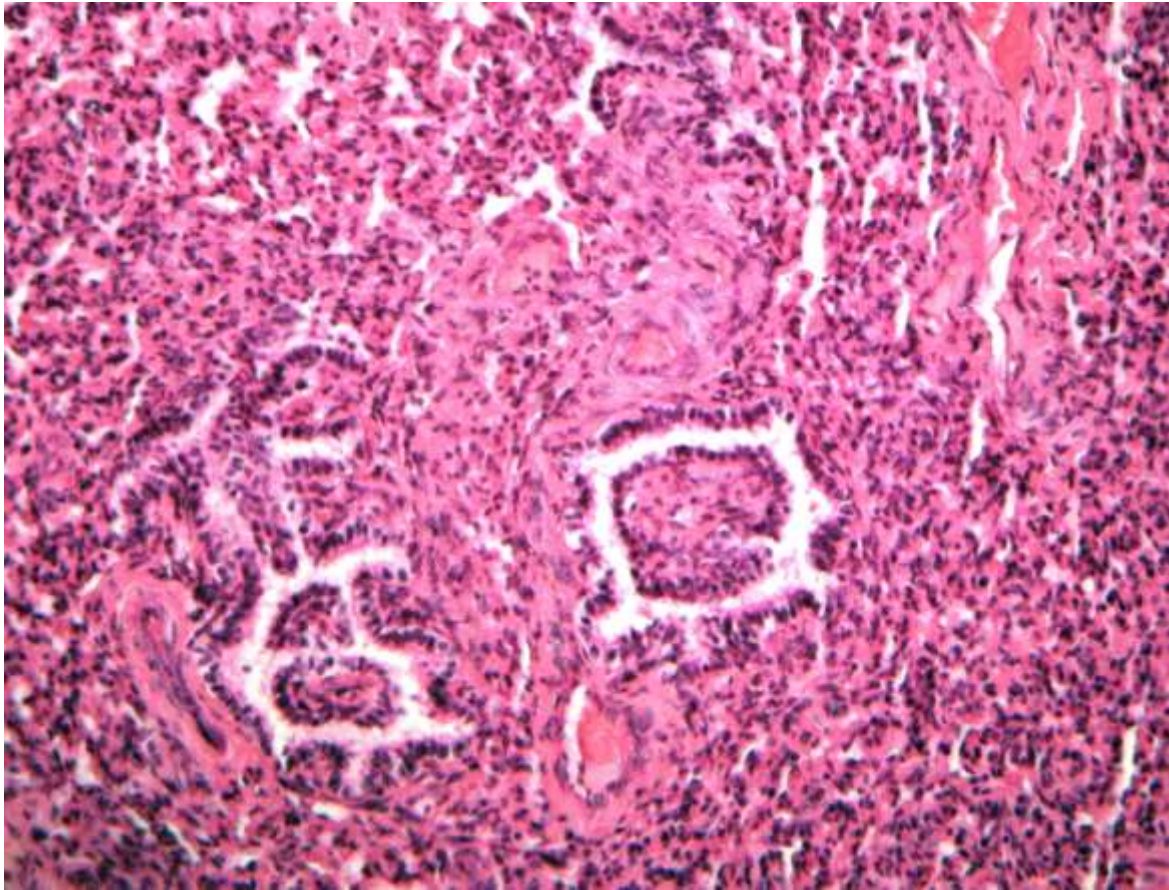


Figura 2. A. Se presentan dos bronquiolos con fibroplasia organizada ocluyendo su lumen y epitelialización subsecuente. El exudado fibrinoso constituye la base de esta organización crónica. H&E, 20x. . **B.** Se muestra la organización temprana del tejido conectivo tanto en la luz del bronquiolo como en el intersticio adyacente. La lesión es el inicio del la bronquiolitis obliterante. Tricrómica de Masson. 40x

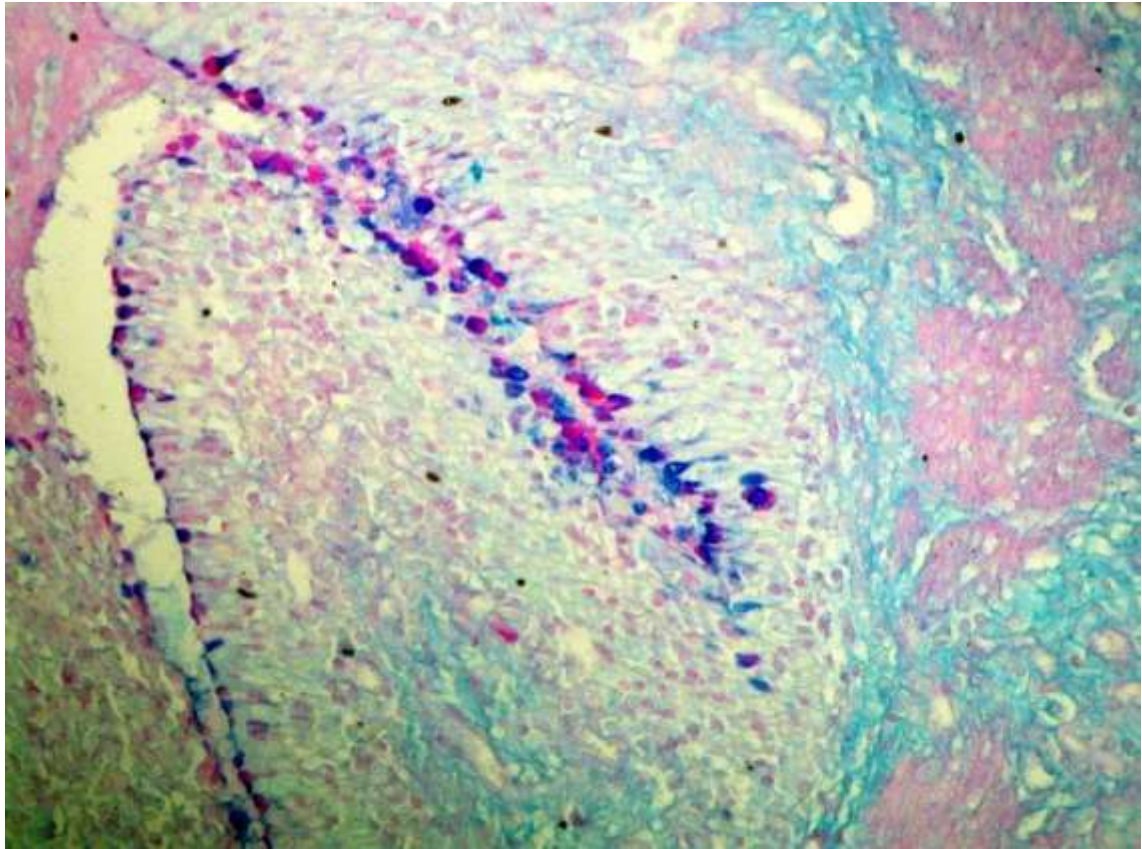


Figura 3. A. Bronquio con hiperplasia epitelial e hiperplasia de células caliciformes (flechas). **B.** Bronquio con hiperplasia de células caliciformes (flechas). PAS/Azul de Alciano 20x.

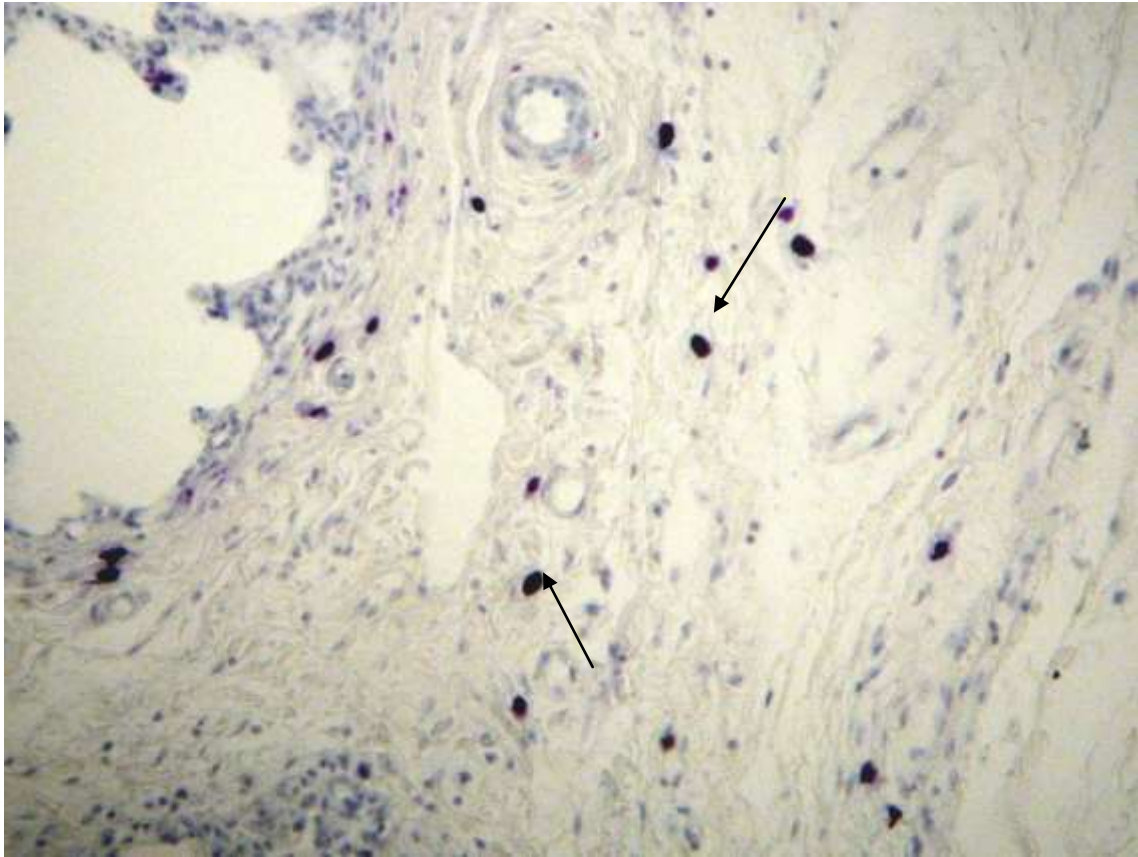


Figura 4. Las células cebadas se mostraron siempre asociadas con fibroplasia. En la imagen se observan la hiperplasia de células cebadas (flechas). Azul de Toluidina. 20x.

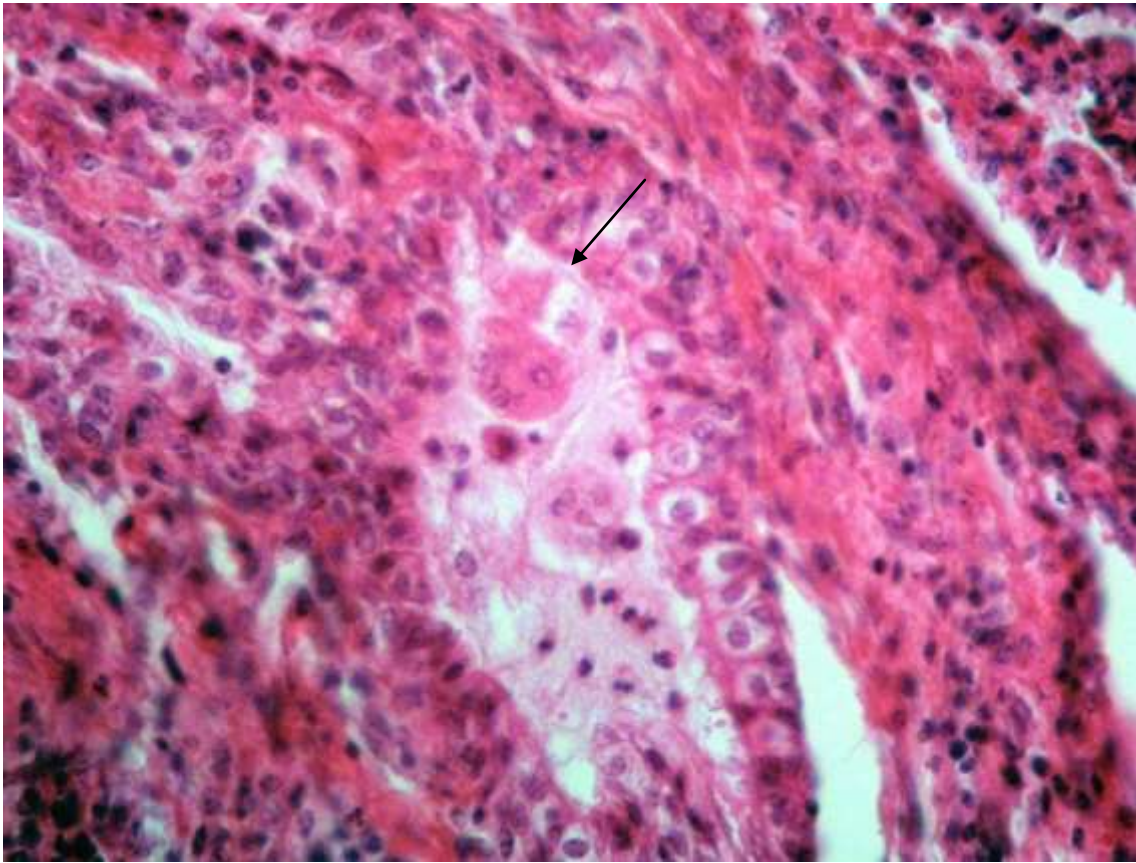


Figura 5. Presencia de células sincitiales, en espacios alveolares o como parte de la hiperplasia epitelial en bronquiolos. En el centro de la imagen se observan los sincitios (flecha). H&E. 20x.

Tabla 7. Resultados de las observaciones de lesiones histopatológicas presentes en las muestras obtenidas de los en bovinos en corral de engorda con problemas de bronconeumonía.

CASOS	H&E					AZUL DE TOLUIDINA	ALCIAN BLUE		TRICROMICA DE MASSON	OBSERVACIONES
	BNA	NIE	BNC	PLEURITIS	BO	CELULAS CEBADAS	HBR	HBL	FIBROPLASIA	
2030-1	-	-	+++	++	+++	+	++	-	+++	
2030-2	-	-	++	++	+++	+	++	+	+++	Neumonía Linfoproliferativa ++
2030-3	-	-	++	+	++	++	+++	++	+++	
2030-6	-	-	++	++	+++	+	+	+	++	Hipertrofia del músculo liso ++
2088	++		++	+	+	+	+	-	-	Presencia de sincitios
2093-107F	-	-	++	+	+	++	-	-	++	Enfisema
2093-114C	-	-	++	+++	+	+++	++	+	+++	Fibroplasia interlobulillar
2093-115C	+	++	-	++	-	++	++	-	++	Lesion subaguda parcialmente organizada
42093-124F	-	-	++	++	++	+	+++	+	+++	
2093-125F	-	-	++	++	+	+	+	-	++	Neumonía Linfoproliferativa
2093-130F	-	-	+++	++	++	++	+	-	++	Zonas con presencia de sincitios y exudación de neutrófilos aguda

2093-132F	-	-	++	+	++	+	++	-	++	Organización de bronquiolitis obliterante
2093-146(1)	-	-	++	+	+	+	+++	++	++	Hiperplasia linfoide
2093-214	-	+++	+++	-	+	+	++	-	++	Presencia de sincitios. Bronquiolitis necrosante. Neumonía intersticial exudativa.
2093-215	+++	-	-	+	-	+	++	+	+	Edema rico en proteína
2093-297	-	+++	-	++	-	+	+	-	+	Bronquioectasia
2131 A	-	-	+++	+++	-	++	+++	-	+++	
2303	-	+++	-	++	-	-	-	-	+	Neumonía intersticial exudativa aguda.
2352-4	+++	+++	-	++	-	++	-	-	+	Sincitios
2352-5	-	+++	-	+++	-	+	-	-	+	Sincitios
2375	++	-		++	-	+	+	-	+	
2375-6	-	-	++	++	-	++	+++	-	++	Hiperplasia linfoide

BNA=Bronconeumonía aguda. NIE=Neumonía intersticial exudativa. BNC=Bronconeumonía crónica. BO=Bronquiolitis obliterante. HBR=Hiperplasia de células caliciformes en bronquio. HBL=Hiperplasia de células caliciformes en bronquiolo. - Leve=+. Moderada=..++. Severa= +++.

5. DISCUSIÓN

Se ha probado que la enfermedad respiratoria bovina es la causa de muerte más importante y los costos relacionados con dichos problemas son mucho más relevantes que cualquier otro problema de salud en corral de engorda (Loneragan *et al.*, 2001). El reconocimiento de animales enfermos con enfermedad respiratoria es una observación subjetiva y podría explicar mucho de los casos nunca tratados (y nunca identificados con la enfermedad respiratoria), o bien como animales tratados (reconocidos clínicamente) pero tratados inadecuadamente y por tanto, con presencia de lesiones neumónicas en el matadero (Faber *et al.*, 1999; Galyean *et al.*, 1999; Gardner *et al.*, 1999; Thompson *et al.*, 2006). En el presente trabajo, se incluyó un grupo de animales que se consideraron clínicamente enfermos, en base a una clasificación de manifestaciones clínicas establecidas por Friton y colaboradores (2004). Asimismo, las lesiones neumónicas observadas en los animales del presente estudio fueron validadas al realizar el examen post mortem.

El criterio para jerarquizar histopatológicamente las lesiones fue el mismo que se empleó en un estudio anterior en borregos, según el curso de la enfermedad, el criterio histológico es como sigue: subagudo (15 días) y crónico (45 días) (Ramírez Romero *et al.*, 2002). Es importante mencionar que se descartaron 10 casos confirmados con bronconeumonía fibrinosa debido a que fueron considerados neumonías agudas. Sin embargo encontramos que en varios casos (5/22) las lesiones neumónicas crónicas seguían siendo activas

en algunas áreas, probablemente con una infección reciente, por la presencia de células sincitiales, las cuales sugieren una infección de índole viral, proponiéndose para estas lesiones el término neumonía crónica activa. A este respecto, es bien sabido que reinfecciones con el virus sincitial respiratorio tanto en niños y becerros son comunes (Van der Poel *et al.*, 1994).

Existen varias condiciones en el corral de engorda que podrían favorecer al mantenimiento de los factores que contribuyen o sostienen la respuesta inflamatoria en los pulmones. La contaminación atmosférica en el corral de engorda podría ser un factor importante. Se ha demostrado que las partículas de polvo suspendidas en el aire son un alto riesgo en los mecanismos del pulmón (Dhakal, 2007). De hecho, las partículas suspendidas en el aire del corral de engorda contienen cantidades importantes de LPS, las cuales son suficientes para inducir lesiones pulmonares y una respuesta sistémica en ovinos. (Purdy *et al.*, 2002; Purdy *et al.*, 2004). Es importante señalar que el LPS es considerado actualmente como uno de los componentes con mayor capacidad inflamatoria derivados de *Mannheimia haemolytica* induciendo un daño severo en el parénquima pulmonar a través de la activación de la reacción de Shwartzman (Ramírez-Romero y Brogden, 2000). Cabe mencionar que el mecanismo de la reacción de Shwartzman tiene un inicio agudo pero el papel de los LPS durante una exposición continua en el corral de engorda contribuye para mantener el daño activo o para impedir una cura completa una vez que el daño agudo ocurre.

Por otra parte, se ha observado que la exposición continua de LPS en el pulmón de ratas puede inducir cambios compatibles con COPD (Vernooy *et al.*,

2002). Así mismo, la enfermedad respiratoria en los caballos conocida como Obstrucción Recurrente de las Vías Aéreas (ORVA) (Recurrent airway obstruction, RAO, en inglés) causada por la exposición de los animales a los contaminantes del establo, mayormente LPS en el medio ambiente, es considerada la condición relacionada con hiperactividad de vías aéreas, inflamación crónica, y patologías relacionadas al asma, con similitud con un cuadro de EPOC en humanos (Berndt *et al.*, 2007)

La EPOC es un síndrome respiratorio que incluye varias entidades que provocan una disnea debido a las lesiones obstructivas en las vías aéreas intrapulmonares (Kobzik, 1999). La bronquitis crónica, bronquiectasia, bronchiolitis crónica, y enfisema, son acompañados de infiltración de neutrófilos, macrófagos, linfocitos y células cebadas. Sin embargo, dependiendo de la influencia académica, algunos autores incluyen el asma dentro de EPOC pero otros específicamente lo excluyen (Kobzik, 1999; Jeffery, 2000; Jeffery, 2001; Jeffery, 2004). En seres humanos las causas son varias e incluyen infecciones de las vías respiratorias, la contaminación atmosférica y fumar (Mukhopadhyay y otros, 2006). En este trabajo se revisó la histopatología de los pulmones afectados por causas infecciosas en bovinos para establecer las posibles analogías existentes en el ganado en corral de engorda (Kalina y Gershwin, 2004; Fujita y Nakanishi, 2007).

Es interesante hacer notar que en niños como en becerros, los virus respiratorio sincitial y parainfluenza 3 resultan de suma importancia en el desarrollo de lesiones neumónicas crónicas y reinfecciones (Clyde, 1980). Además, aunque las infecciones respiratorias son comunes en individuos

jóvenes, la alta morbilidad y los casos más severos ocurren en zonas con altos niveles de contaminación atmosférica (Clyde, 1980).

La bronquiolitis obliterante es una característica común en EPOC y, así como el resto de los cambios incluidos, podría ser una secuela de una infección crónica del tracto respiratorio con una activación redundante de TNF- α (Mukhopadhyay *et al.*, 2006; Fujita y Nakanishi, 2007). Cabe señalar que la infección del virus respiratorio sincitial induce una sobre exposición del receptor Toll-like 4 (TLR-4, receptor para LPS) en células epiteliales, volviendo el parénquima pulmonar más susceptible para la respuesta inflamatoria inducida por el LPS a través de la vía de TNF α (Kalina y Gershwin, 2004). Similarmente, se ha observado que los caballos con ORVA y con una inflamación pulmonar crónica muestran una elevada expresión de TLR-4 en células epiteliales bronquiales (Berndt *et al.*, 2007).

Se ha propuesto que la EPOC es el resultado de los eventos que ocurren durante un proceso de inflamación y restauración tisular, lo cual resulta desfavorable para una restauración completa por la deposición anormal de matriz extracelular (Jeffery, 2001; Saetta y Turato, 2001; Jeffery, 2004; Postma y Timens, 2006). La presencia de un estímulo pro-inflamatorio, principalmente LPS, pudiera ser la causa más probable que impida la restauración total de la lesión neumónica en el ganado en corral de engorda (Purdy *et al.*, 2002; Purdy *et al.*, 2004). Ha sido recientemente demostrado que tanto el LPS, la Lct, los factores de virulencia más importantes de *Mannheimia haemolytica*, influyen de manera tal que la inflamación en el pulmón tiende a desarrollar cronicidad y fibrosis debido al desequilibrio entre la expresión exacerbada de gelatinasas y

la producción disminuida de sus inhibidores (Starr *et al.*, 2003). Esta alteración pudiera contribuir a generar la fibroplasia en las lesiones neumónicas crónicas, una condición comparable con EPOC (Starr *et al.*, 2003).

La BO-NO consiste en una serie de cambios inflamatorios proliferativos crónicos en el pulmón neumónico compuestos principalmente por la obliteración de los alvéolos con material parecido al tejido de granulación. Esto representa un proceso de restauración incompleta en una alveolitis fibrinosa que fue la lesión original (Cordier, 2002; Cordier, 2006). Aunque en la mayor parte de los casos la lesión pulmonar ocurre con bronquiolitis obliterante, también hay otros casos en los cuales dicha lesión no se encuentra y se considera sólo como Neumonía Organizante (NO) (Cordier, 2002; Oymak *et al.*, 2005; Cordier, 2006). Esta forma de neumonía era, originalmente, el resultado común de la inflamación de las severas neumonías lobares causadas por el neumococo en los seres humanos que alcanzaron los estadios finales cuando los antibióticos no estaban disponibles (Cordier *et al.*, 2006). Actualmente, la forma más común de BO-NO se conoce también como criptogénica o primaria (etiología indefinida o presentaciones idiopáticas) (Cordier., 2002; Oymak *et al.*, 2005; Cordier., 2006). Esta forma de BO-NO no es excluida para el propósito del presente trabajo puesto que las causas infecciosas son más relacionadas con el CRB. Las lesiones incluidas en BO-NO están siempre presentes en casos crónicos de Mannheimiosis neumónica y son también compatibles con esas lesiones extremas registradas hace mucho tiempo en los casos severos de pneumococosis en seres humanos (Cordier., 2002; Oymak *et al.*, 2005; Cordier., 2006). Cabe mencionar que la distribución lobar de estas neumonías

también guarda similitud con la morfología de la lesión de Mannheimiosis (Kobzik, 1999).

Las neumonías fibrinosas típicas o fibrino supurativas en el ganado en corral de engorda están caracterizadas por edema, fibrina, neutrófilos y macrófagos activos en el espacio alveolar y bronquiolar. La organización de este material toma lugar como uno de las imágenes más evidentes con presencia de espirales de fibrina mezclados con neutrófilos en los alveolos de los becerros muertos durante las severas neumonías por *Mannheimia haemolytica*. (Ackermann *et al.*, 1994). La evolución de la lesión a los 15 días en casos severos se resuelve de una manera incompleta y se organiza cubriendo el lumen de los alvéolos con tapones fibrinosos a fibrosos (Ramírez-Romero *et al.*, 2002). Por lo tanto, las lesiones incluidas en BO-NO, provocadas por infecciones bacterianas por *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Streptococcus pneumoniae* entre otros (Cordier, 2006), son similares en su imagen microscópica a los casos crónicos de las neumonías exudativas (bronconeumonías supurativas y fibrinosas) representativas del CRB en ganado en corral de engorda.

Los modelos animales de la fibrosis pulmonar están disponibles pero los modelos de BO-NO son escasos y tienen limitaciones inherentes (Bellum *et al.*, 1997). El animal más cercano que representa a la BO-NO de los seres humanos son los ratones CBA/J a los que se les provoca la infección experimental con el reovirus (serotipo 1/cepa Lang). La lesión neumónica representativa es una fibrosis intralveolar que se desarrolla después de 3

semanas de la infección (Bellum *et al.*, 1997). Esto va de acuerdo con el curso de las lesiones neumónicas incluidas en el presente estudio. Otras lesiones consideradas característica de BO-NO en seres humanos, también encontrada en el modelo murino referido incluye la hiperplasia linfóide peribronquiolar, presencia de macrófagos espumosos activados colectados en espacios alveolares y fibroplasia intersticial con infiltración linfocítica (Bellum *et al.*, 1997). Todas estas lesiones son también comunes a las observadas en infecciones crónicas de las neumonías de fiebre de embarque (López, 2007) y ya han sido reproducidas experimental (Ramírez-Romero et al., 2001).

Se ha postulado que el desarrollo de las lesiones pulmonares en el modelo murino de BO-OP ocurre como resultado de la severidad de la lesión pulmonar inicial, lo cual favorece un aumento en la expresión local de citocinas proinflamatorias y fibróticas. (Bellum *et al.*, 1997; Majeski *et al.*, 2003[36]; Majeski *et al.*, 2003[37]).

Es probable que esta lesión también pudiera ocurrir en los casos severos de neumonía causada por fiebre de embarque. Además es factible considerar que la exposición continua de factores predisponentes en el corral de engorda contribuyen a mantener la respuesta inflamatoria pulmonar así como los cambios fibróticos.

Las lesiones aquí registradas incluyen fibroplasia lobular tanto intersticial y como pleural, bronquiolitis obliterante, fibrinosis, organización alveolar fibrosa de exudados, atelectasia y enfisema; así como hiperplasia de las células cebadas, hiperplasia y metaplasia de las células caliciformes, y bronquiectasia.

Todos estos cambios se han descrito en los síndromes de EPOC y de BO-NO en los seres humanos (Kobzik, 1999).

Al considerar exclusivamente las causas infecciosas en la EPOC y la BO-NO y que las infecciones virales en edad temprana son comunes en seres humanos y ganado; asimismo, que la contaminación atmosférica y los LPS instigan a la severidad y a la permanencia de la inflamación así como a una evolución anormal del remodelado tisular, las analogías histopatológicas entre humanos y bovinos tienen mayor fundamento.

A pesar de las desventajas obvias, los modelos alternativos de animales no laboratorio no convencionales, como los bovinos, podrían ofrecer ventajas interesantes en el estudio de las enfermedades respiratorias en humanos (Kirschvink y Reinhold, 2008). En particular si se toma en cuenta que se requieren modelos para conocer los efectos de las infecciones respiratorias en edad temprana y la persistencia de la inflamación en concomitancia con la propia remodelación y maduración del pulmón (Tiddens *et al.*, 2000), los bovinos ofrecen ventajas considerables.

6. CONCLUSIONES

Las neumonías exudativa resultaron ser el mayor problema en los animales en corral de engorda considerados en este trabajo. A pesar de que se cuenta con biológicos y fármacos de excelente calidad, aun no se aprecian los beneficios esperados. Las enfermedades pulmonares crónicas de los humanos, particularmente la EPOC y la BO-NO comparten semejanzas con las lesiones pulmonares crónicas representativas del CRB. En los humanos existen otros factores que participan en el desarrollo de las lesiones pulmonares. No obstante, las causas infecciosas en la EPOC y la BO-NO de los humanos pueden considerarse compatibles con las principales causas del CRB.

REFERENCIAS

1. Ackermann, M. R., DeBey, B. M., Stabel, T. J., Gold, J. H., Register, K. B. and Meehan, J. T.: Distribution of anti-CD68 (EBM11) immunoreactivity in formalin-fixed, paraffin-embedded bovine tissues. *Vet Pathol*, 31, 340-348 (1994).
2. Anderson, G., Bancroft, J.: Tissue Processing and Microtomy Including Frozen, in *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5th ed. Bancroft, J. D. and Gamble, M. editors. Churchill Livingstone, Edinburgh, U.K., 2002.
3. Bellum S. C., Dove D., Harley R. A., Greene W. B., Judson M. A., London L., London S. D. : Respiratory reovirus 1/L induction of intraluminal fibrosis. A model for the study of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Am J Pathol*. 150(6):2243-54 (1997).
4. Berndt A., Derksen F. J., Venta P. J., Ewart S., Yuzbasiyan-Guurkan V., Robinson N. E.: Elevated amount of Toll-like receptor 4 mRNA in bronchial epithelial cells is associated with airway inflammation in horses with recurrent airway obstruction, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 292:L936-43. (2007).
5. Booker, C. W., Abutarbush, S. M., Morley, P. S., Jimm, G. K., Pittman, T. J., Schunicht, O. C., Perrett, T., Wildman, B. K., Fenton, R. K., Guichon, P. T., Janzen, E. D. (2008). Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in western Canada. *Can Vet J*, 49: 473-481(2008).
6. Clyde W. A. Jr.: Experimental models for study of common respiratory viruses. *Environ Health Perspect*. 35:107-12 (1980).
7. Chee, C. B. E., Da Costa, J. L., Sim, C. S.: A female with dry cough, progressive dyspnea and weight loss. *Eur Respir J*, 25: 206-209 (2005).
8. Cordier, J. F.: Update on cryptogenic organizing pneumonia (idiopathic bronchiolitis obliterans organizing pneumonia). *Swiss Med Wkly*, 132: 588-591 (2002).
9. Cordier, J. F.: Cryptogenic organizing pneumonia. *Eur respir J*, 28: 422-46 (2006).
10. Daoust, P. Y.: Morphological study of bacterial pneumonia of feedlot cattle: determination of age of lesions. *Can Vet J*, 30: 155-160 (1989).

- 11.Dhaka, M.: Cattle Feedlot Dust: Solubility In Lung Simulant Fluid And Stimulation Of Cytokine Release From Lung Epithelial Cells. MPH Thesis, Kansas State University. Manhattan, Kansas, 2007.
- 12.Elias, J. A., Kang, M. J., Crouthers, K., Homer, R., Lee, C. G.: mechanistic heterogeneity in chronic obstructive pulmonary disease. Insights from transgenic mice. *Proc Am Thorac Soc*, 3: 494-498 (2006).
- 13.Faber, R., Hartwig, N., Busby, D., BreDahl, R.: The cost and predictive factors of bovine respiratory disease in standardized steer tests. Beef Research Report, A.S. Leaflet R1648. Iowa State University, 1999.
- 14.Frank, G. H., Briggs, R. E., Duff, G. C., Loan, R. W., Purdy, C.W.: Effect of vaccination prior to transit and administration of florfenicol at time of arrival in a feedlot on the health of transported calves and detection of *Mannheimia haemolytica* in nasal secretions. *Am J Vet Res*, 63: 251-256 (2002).
- 15.Frank, G. H., Duff, G. C.: Effect of tilmicosin phosphate, administered prior to transport or a time of arrival, and feeding of chlortetracycline, after arrival in a feedlot, on *Mannheimia haemolytica* in nasal secretions of transported steers. *Am J Vet Res*, 61: 1479-1483 (2000).
- 16.Friton, G. M., Cajal, C., Ramírez-Romero, R.: Long-term effects of meloxicam in the treatment of respiratory disease in fattening cattle. *Vet Rec*, 156: 809-811 (2005).
- 17.Friton, G. M., Cajal, C., Ramírez-Romero, R., Kleemann, R.: Clinical efficacy of meloxicam (Metacam ®) and flunixin (Finadyne ®) as adjuncts to antibacterial treatment of respiratory disease in fattening cattle. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 117: 304-309 (2004).
- 18.Fujita M., Nakanishi Y.: The pathogenesis of COPD: lessons learned from in vivo animals models. *Med Sci Monit*. 13:RA 19-24 (2007).
- 19.Gagea, M. I., Bateman, K. G., van Dreumel, T., McEwen, B. J., Carman, S., Archambault, M., Sanan, R. A., Caswell, J. L.: Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *J Vet Diagn Invest*, 18: 18-22 (2006).
- 20.Galyean, M. L., Perino, L. J., Duff, G. C.: Interaction of cattle health/immunity and nutrition. *J Anim Sci*, 77: 1120-1134 (1999).
- 21.Gamble, M., Wilson, I.: The Hematoxylins and Eosins, in *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5th ed. Bancroft, J. D. and Gamble, M. editors. Churchill Livingstone, Edinburgh, U.K., 2002.

22. Gardner, B. A., Dolezal, H. G., Bryant, L. K., Owens, F. N., Smith, and R. A.: Health of finishing steers: effect on performance, carcass traits, and meat tenderness. *J Anim Sci*, 77: 3168-3175 (1999).
23. Haines D. M., Moline K. M., Sargent R. A., Campbell J. R., Myers D. J., Doig P. A.: Immunohistochemical study of *Haemophilus somnus*, *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica*, and bovine viral diarrhea virus in death losses due to myocarditis in feedlot cattle. *Can Vet J*. 45:231-234. (2004).
24. Hopwood, D.: Fixation and Fixatives, in *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5th ed. Bancroft, J. D. and Gamble, M. editors. Churchill Livingstone, Edinburgh, U.K., 2002.
25. Jeffery, P. K.: Comparison of the structural and inflammatory features of COPD and asthma. *Chest*, 117: 251s-260s (2000).
26. Jeffery, P. K.: Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 164: 28s-38s (2001).
27. Jeffery, P. K.: remodeling and inflammation of bronchi in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Torca Soc*, 1: 176-183 (2004).
28. Jones, M. L.: Connective Tissue and Stains, in *Theory and Practice of Histological Techniques*, 5th ed. Bancroft, J. D. and Gamble, M. editors. Churchill Livingstone, Edinburgh, U.K., 2002.
29. Kalina W. V., Gershwin LJ.: Progress in defining the role of RSV in allergy and asthma: from clinical observations to animal models. *Clin Dev Immunol*. 11(2):113-9 (2004).
30. Kirschink N. Reinhold P.: Use of alternative animals as asthma models. *Curr Drug Targets*. 470-84 (2008).
31. Kobzik, L.: The Lung, in *Pathologic Basis of Disease* 6th ed. Cotran, R. S., Kumar, V., Collins, T. editors. W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, 1999.
32. Juárez Barranco, F., Trigo Tavera, F. J., Chávez Gris, G., Vargas García, R.: Identificación de agentes virales por inmunohistoquímica en enfermedades respiratorias de bovinos en corral de engorda. *Vet Méx*, 34: 1-12 (2003).
33. Loneragan, G. H., Dargatz, D. A., Morley, P. S., Smith, M. A.: Trends in mortality ratios among cattle in US feedlots. *J Am Vet Med Assoc*, 219: 1122-1127 (2001).

34. López A.: Respiratory System, in Pathologic Basis of Veterinary Disease 4th ed. McGavin, M. D. and Zachary, J. F. editors. Mosby Elsevier, St. Louis, Missouri, 2007.
35. Mukhopadhyay, S., Oídla, J. R., Mukherjee, T. K.: Role of $TNF\alpha$ in pulmonary pathophysiology. *Respir Res*, 7: 125 (2006).
36. Majeski E. I., Harley R. A., Bellum S. C., London S. D., London L.: Differential role for T cells in the development of fibrotic lesions associated with reovirus 1/L-induced bronchiolitis obliterans organizing pneumonia versus Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 28:208-217(2003).
37. Majeski E. I., Paintlia M. K., Lopez A. D., Harley R. A., London S. D., London L.: Respiratory reovirus 1/L induction of intraluminal fibrosis, a model of bronchiolitis obliterans organizing pneumonia, is dependent on T lymphocytes. *Am J Pathol*. 163(4):1467-1479 (2003).
38. Oymak, F. S., Demirbas, H. M., Mavili, E., Akgun, H., Gulmez, I., Demir, R., Ozesmi, M.: Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Respiration*, 72: 254-262 (2006).
39. Postma, D. J., Timens, W.: Remodeling in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc*, 3: 434-439 (2006).
40. Purdy, C. W., Straus, D. C., Chirase, N., Parker, D. B., Avers J. R., Hoover, M. D.: Effects of aerosolized feedyard dust that contains natural endotoxins on adult sheep. *Am J Vet Res*, 63: 28-35 (2002).
41. Purdy, C. W., Straus, D. C., Parker, D. B., Wilson, S. C., Clark, R. N.: Comparison of the type and number of microorganisms and concentration of endotoxin in the air of feedyards in Southern High Plains. *Am J Vet Res*, 65: 45-52 (2004).
42. Ramírez Romero, R.: El conejo como modelo para el estudio del daño pulmonar generado por el lipopolisacárido de *Pasteurella haemolytica* mediante la reacción de Shwartzman y el fenómeno de Arthus. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, N.L., 1995.
43. Ramírez-Romero, R.: Mast cell quantification and substance P immunoreactivity in a model of pneumonic pasteurellosis in ruminants. Ph.D. Thesis. Iowa State University, Ames, Iowa, 2000.

44. Ramírez Romero, R. y Brogden, K. A.: Patogénesis del daño pulmonar provocado por *Pasteurella haemolytica*. Rev Lat-Amer Microbiol, 37: 353-365 (1995).
45. Ramírez-Romero, R. and Brogden, K. A.: The potential role of the Arthus and Shwartzman reactions in the pathogenesis of pneumonic pasteurellosis. Inflamm Res, 49: 98-101 (2000).
46. Ramírez-Romero, R., Brogden, K. A., Gallup, J. M., Dixon, R. A. F., and Ackermann, M. R.: Reduction of pulmonary mast cells in areas of acute inflammation in calves with *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* pneumonia. J Comp Path, 123: 29-35 (2000).
47. Ramírez-Romero, R., Brogden, K.A., Gallup, J.M., Sonea, I.M. and Ackermann, M.R.: Mast cell density and substance P-like immunoreactivity during the initiation and progression of lung lesions in ovine *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* pneumonia. Microb Path, 30: 325-335 (2001).
48. Saetta, M., Turato, G.: Airway pathology in asthma. Eur Respir J, 18: 18s-23s (2001).
49. Sanderson M. W., Dargatz D. A., Wagner B. A.: Risk factors for initial respiratory disease in United States' feedlots based on producer-collected daily morbidity counts. Can Vet J. 49:373-8 (2008).
50. Starr, A. E., Dan, T., Minhas, K., Shewen, P. E., Coomber, B. L.: Potencial involvement of gelatinases and their inhibitors in *Mannheimia haemolytica* pneumonia in cattle. Infect Immun, 72:4393-4400 (2004).
51. Totty, B. A.: Mucins, in Theory and Practice of Histological Techniques, 5th ed. Bancroft, J.D. and Gamble, M. editors. Churchill Livingstone, Edinburgh, U.K., 2002.
52. Trigo, F. J.: Aparato Respiratorio, en Patología Sistémica Veterinaria 3ª ed. Trigo Tavera, F. J. editor. McGraw-Hill Interamericana, México, D.F., 1998.
53. Thompson, P. N., Stone, A., Schultheiss, W. A.: use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. J Anim Sci, 84: 488-498 (2006).
54. Tiddens, H., Silverman, M., Bush, A.: The role of inflammation in airway disease. Remodeling. Am J Respir Crit care Med, 162: 7s-10s (2000).

55. Totty, B. A.: Mucins, in Theory and Practice of Histological Techniques, 5th ed. Bancroft, J. D. and Gamble, M. editors. Churchill Livingstone, Edinburgh, U.K., 2002.
56. Vernooij, J. H. J., Dentener, M. A., van Suylen, R. J., Buurman, W. A., Wouters, E. F. M.: Long-term intratracheal lipopolysaccharide exposure in mice results in chronic lung inflammation and persistent pathology. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 26: 152-159 (2002).

APENDICE 1

Tinción de Hematoxilina y Eosina

Soluciones:

- Hematoxilina de Harris.
- Eosina acuosa 1%.
- Alcohol-clorhídrico 0.5%.

Procedimiento:

- 1.- Desparafinar e hidratar
- 2.-Solución hematoxilina de Harris (3 minutos)
- 3.-Agua corriente.
- 4.-Diferenciar con solución alcohol-clorhídrico 0.5% (2 baños)
- 5.-Lavar con agua corriente caliente.
- 6.-Solución eosina 1% (1 minuto).
- 7.-Lavar con agua corriente.
- 8.-Deshidratar, aclara y montar.

Resultados:

Reconocimiento de cambios histológicos de rutina.

APENDICE 2

Tinción Azul de Toluidina de ph bajo (0.5)

Soluciones:

- Azul de Toluidina.
- Acido clorhídrico
- Alcohol absoluto
- Alcohol de 96 %
- Alcohol de 80%
- Agua destilada
- Xilol

Procedimiento:

Los tejidos se seccionaron a 4 micras. Se tiñeron con azul de toluidina de Ph 0.5 preparada con acido clorhídrico. Las secciones se mantuvieron por 24 horas en la tinción para luego pasarse en alcoholes a diferentes grados (100%, 96% y 80%) de concentración se pasaron por xilol.

Resultado:

Para la densidad de las células cebadas (Ramírez y colaboradores 2001).

APENDICE 3

Tinción de Tricrómica de Masson

Soluciones:

- Fuscina-escarlata
- Hematoxilina férrica de Weigert
- Acido fosfomolibdico
- Acido fosfotungstico
- Azul de anilina
- Acido acético
- Alcohol absoluto
- Alcohol de 96 %
- Alcohol de 80%
- Xilol
- Fijador Bouin

Procedimientos:

1. Cortar las muestras a 4 micras.
 2. Desparafinar con xilol e hidratar pasando por alcoholes (100%, 96% y 80%) hasta agua destilada.
 3. Colocar las muestras en fijador de Bouin por 1 hora a 56 °C.
 4. Lavar en agua corriente hasta que el color amarillo desaparezca.
 5. Enjuagar los cortes con agua destilada.
 6. Colocar en hematoxilina férrica de Weigert por 10 minutos.
 7. Lavar en agua corriente.
 8. Enjuagar en agua destilada.
- 71
9. Colocar en fuscina-escarlata por 5 minutos.
 10. Lavar con agua destilada hasta que deje de teñirse.
 11. Colocar en acido fosfomolibdico-fosfotungstico por 10 minutos. Enjuagar brevemente en agua destilada.
 12. Colocar en azul de anilina por 5 minutos.
 13. Lavar con agua destilada hasta eliminar el exceso de colorante.
 14. Colocar en ácido acético-acuoso por 1-2 minutos.
 15. Deshidratar en alcohol al 96% por segundos.
 16. Cuidando que no se decolore.
 17. Pasar con baños por alcohol absoluto hasta aclarar en xilol y montar.

Resultados:

Histoquímica de tejido conectivo fibroso y siendo utilizada en este trabajo para evidenciar la cronicidad del proceso neumónico (Luna Lee, 1965 y Ramírez et al, 2001).

APENDICE 4

Tincion de Azul de Alciano

Soluciones:

- Alcohol absoluto
- Alcohol de 96 %
- Alcohol de 80%
- Xilol
- Azul de Alciano
- Acido peryódico
- Reactivo de Schiff

Procedimiento:

1. Cortar a 4 μm , puestos en portaobjetos, en un autoclave por 15 minutos.
2. Después se sometieron a desparafinar (alcohol a diferentes grados hasta xilol) e hidratar.
3. Luego se colocaron en azul de Alciano por 40 minutos.
4. Lavar con agua corriente.
5. Dejar secar.
6. Colocar en acido periódico por 10 minutos.
7. Lavar con agua destilada.
8. Colocar con reactivo de Schiff por 20 minutos.
9. Lavar en agua corriente por 20 minutos.

Resultados:

Presencia de las células cebadas.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

MAYRA ALEJANDRA GONZÁLEZ VÁZQUEZ

**CANDIDATA PARA EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
VETERINARIAS SALUD ANIMAL.**

TESIS: “CARACTERIZACION DE LESIONES HISTOPATOLOGICAS EN
CASOS CRONICOS DE NEUMONIA EN EL GANADO DE ENGORDA EN
CORRAL”

CAMPO DE ESTUDIO: PATOLOGÍA

BIOGRAFÍA: NACIDA EN MONTERREY, NUEVO LEÓN EL 9 DE FEBRERO
DE 1979, HIJA DE PEDRO GONZÁLEZ VÁZQUEZ Y MARÍA VÁZQUEZ
MUÑIZ, CASADA CON EL MVZ. MC. AARÓN ALEJANDRO MENDOZA
VILLARREAL.

EDUCACIÓN. EGRESADA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO
LEÓN, GRADO OBTENIDO MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA EN 2004.

EXPERIENCIA PROFESIONAL.

INSTITUCIÓN: COMITÉ PARA EL FOMENTO Y PROTECCIÓN PECUARIA
DEL ESTADO DE NUEVO LEÓN. ANALISTA.

PERIODO: DE NOVIEMBRE DEL 2001 A AGOSTO DEL 2007.